

BAZELE NORMATIVE ALE ACTIVITĂȚII LABORATOARELOR DE DIAGNOSTIC CLINIC

616-07
B 38

Bazele normative ale activităţii laboratoarelor de diagnostic clinic

662641
UNIVERSITATEA DE STAT
DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
"NICOLAE TESTEMIŢEANU"
BIBLIOTECA

Chişinău – 2006

CZU 616-071(083.13)
B 38

Culegerea de materiale "Bazele normative ale activităţii laboratoarelor de diagnostic clinic" a fost aprobată şi recomandată spre editare de Consiliul de Experţi al Ministerului Sănătăţii şi Protecţiei Sociale (proces-verbal nr.4 din 23 iunie 2006).

ADNOTARE:

Culegerea de faţă cuprinde documentele oficiale, care determină bazele juridice ale activităţii laboratoarelor de diagnostic clinic, indicaţii metodice pentru realizarea controlului calităţii investigaţiilor de laborator şi, totodată, denumirile metodelor contemporane de cercetări (peste 2000 denumiri) care pot fi folosite în orice laborator de diagnostic clinic contemporan la întocmirea documentaţiei de evidenţă şi dare de seamă, elaborarea planurilor de muncă, aprecierea volumului şi calităţii lucrului efectuat etc.

Ediţia include, de-asemenea, descrierea detaliată a unei serii de metode şi tehnici de laborator unificate care se aplică curent în laboratoarele de diagnostic clinic. Diferitele tehnici de laborator sunt redate într-o formă cât mai accesibilă pentru rezidenţi, medici-cursanţi şi cadre de specialitate.

Culegerea este predestinată tuturor specialiştilor din laboratoarele de diagnostic clinic, cadrelor didactice şi studenţilor instituţiilor de învăţămînt mediu, superior şi postuniversitar, administratorilor sănătăţii publice.

RECENZENŢI:

Partea I

Dumitru Tintiuc, dr.hab.med, prof.universitar, şef Catedră Sănătate Publică şi Management „Nicolae Testemiţanu".

Constantin Babiuc, doctor în medicină, prof.universitar, şef Catedră Medicină Internă nr.1.

Partea 2

Dumitru Tintiuc, dr.hab.med, prof.universitar, şef Catedră Sănătate Publică şi Management „Nicolae Testemiţanu".

Victor Botnaru, dr.hab.med., prof.universitar, şef Catedră Medicină Internă nr.2.

Partea 3

Victor Botnaru, dr.hab.med., prof.universitar, şef Catedră Medicină Internă nr.2.

Minodora Mazur, dr.hab.med., prof.universitar, Catedra Medicină Internă nr.3.

Descrierea CIP a Camerei Naţionale a Cărţii

Bazele normative ale activităţii laboratoarelor de diagnostic clinic: Culeg. de materiale a fost aprobată şi recomandată spre editare de Consiliul de Experţi al Min. Sănătăţii şi Protecţiei Sociale / Centrul Rep. al Controlului Extern al calităţii cercet. de lab. – Ch.: Elena V.I. SRL, 2007. – 352 p.
ISBN 978-9975-9548-5-3
350 ex.

616-071(083.13)

ISBN 978-9975-9548-5-3

AUTORI:

Prof.dr.hab.med. **Valentin Gudumac,**
Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF „Nicolae Testemiţanu"

Prof.dr.hab.med. **Vasile Niguleanu,**
Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF „Nicolae Testemiţanu"

Prof.dr.hab.med. **Lucia Andrieş,**
Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF „Nicolae Testemiţanu"

Prof.dr.hab.med. **Ion Corcimaru,**
membru corespondent AŞ RM
Catedra Hematologie, USMF "Nicolae Testemiţanu"

Prof.dr.hab.biol. **Valeriu Rudic,**
academician, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie AŞ RM

Prof.dr.hab.med. **Victor Rîvneac,**
Catedra Histologie, Citologie şi Embriologie, USMF "Nicolae Testemiţanu"

Dr.hab.med. **Ion Lazarev,**
Laboratorul de Citologie, Insitutul de Oncologie

Conf.univ.dr.med., **Olga Tagadiuc,**
Catedra Biochimie, USMF „Nicolae Testemiţanu"

Prof.dr.hab.med. **Victor Ghicavîi,**
Catedra Farmacologie şi Farmacologie Clinică, USMF "Nicolae Testemiţanu"

Prof.dr.hab.med. **Constantin Spânu,**
Centrul Naţional Ştiinţifico-Practic de Medicină Preventivă

Dr.biol. **Svetlana Caragia,**
Spitalul Municipal de copii „V.Ignatenco",
Directorul Centrului Republican al Controlului de Calitate

Medic de laborator categoria superioară **Elena Jucova,**
Spitalul Clinic Reublican,
Vice-Directorul Centrului Republican al Controlului de Calitate

Asistent universitar **Ana Varticean,**
Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF „Nicolae Testemiţanu"

Asistent universitar **Lilia Rotaru,**
Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF „Nicolae Testemiţanu"

Medic bacteriolog categoria superioară **Ludmila Mutoi,**
Laboratorul Microbiologie,
Centrul Naţional Ştiinţifico-Practic de Medicină Preventivă

Medic de laborator categoria superioară **Liubovi Raţuc,**
Centrul Republican de Diagnosticare Medicală

Medic de laborator categoria superioară **Vera Lungu,**
profesoare la Colegiul Naţional de Medicină şi Farmacie

"Laboratoarele sunt temple sacre unde se făurește viitorul omenirii,... templele viitorului"

Luis Pasteur

PREFAȚĂ

Una din direcțiile principale ale progresului tehnico-științific în medicină este dezvoltarea accelerată a metodelor și mijloacelor diagnosticului de laborator clinic.

Aplicarea largă în practică a ultimelor realizări ale științelor fundamentale - fizicii, chimiei, biologiei moleculare a condus la creșterea vertiginoasă a posibilităților de cercetare în toate domeniile de activitate a laboratoarelor clinice și, totodată, s-a soldat cu apariția unor noi compartimente ale analiticii de laborator.

Ediția de față conține documentele oficiale care determină bazele juridice și principiile activității laboratoarelor de diagnostic clinic din instituțiile medico-sanitare. O atenție deosebită a fost acordată problemelor ce țin de economia sănătății, factorilor care contribuie la majorarea prețurilor serviciilor medicale și strategiilor de ținere a acestora sub control, fapt ce justifică necesitatea planificării și elaborării managementului sistemului de sănătate în baza teoriilor generale de planificare și management în societatea modernă.

Calitatea investigațiilor de laborator constituie o altă problemă importantă a serviciului de laborator.

De aceea în ediția de față, în mod detaliat sunt descrise tehnicile privitor la realizarea controlului de calitate și metodele de apreciere a veridicității analitice a testelor de laborator; acestea constituie baza "bunei practici de laborator" (GLP - good laboratory practice).

Extinderea domeniilor de metode de diagnostic a necesitat întocmirea unui nou „Nomenclator al investigațiilor de laborator", ceea ce a fost efectuat de autorii acestei culegeri - cadre didactice și specialiști cu mare experiență în domeniile respective ale diagnosticului de laborator în corespundere cu Clasificarea Internațională a Procedeelor de Laborator acceptată de Organizația Mondială a Sănătății. Necesitatea elaborării unui nou nomenclator al investigațiilor de laborator a devenit deosebit de stringentă în legătură cu faptul că nomenclatorul emis prin ordinul nr. 851 al Ministerului Ocrotirii Sănătății (MOS) din 29.12.1970 este învechit și nu cuprinde toată diversitatea de cercetări efectuate în laboratoare. Nomenclatorul de față include peste 2000 denumiri ale testelor de diagnostic care pot fi folosite în orice laborator contemporan la întocmirea documentației de evidență și dare de seamă, elaborarea planurilor de muncă, aprecierea volumului și calității lucrului efectuat.

Extinderea domeniilor analiticii de laborator are și o altă latură. În condițiile când sunt cunoscute zeci de metode de cercetare a unui anumit component al materialului biologic, este dificil de a alege cea mai optimală metodă. Influența unor factori întâmplători poate conduce la divergențe la utilizarea metodelor alese arbitrar, astfel creând dificultăți la compararea rezultatelor analizelor aceluiași pacient efectuate în laboratoare diferite. Ținând cont de faptul că în laboratoarele de diagnostic clinic, de rând cu cele mai noi metode de explorări cu utilizarea aparaturii de investigare modernă, se folosesc pe larg metodele unificate, prevăzute de ordinele MOS URSS nr. 250, 290, 558, 936, 960, 1089 și 1075, în instrucțiunile metodice de față au fost selectate și descrise aceste metode clasice, în executarea cărora nu este necesară decât aparatura și reactivii accesibili, care pot fi găsiți în toate laboratoarele de specialitate și care nu și-au pierdut importanța lor, ele fiind mai puțin costisitoare.

Culegerea de față prezintă încă un pas spre realizarea unei obiective ale Asociației Medicilor și Specialiștilor în Domeniul Medicinei de Laborator din republică: de a informa operativ specialiștii din serviciul de laborator și administratorii sănătății publice despre inovațiile și modificările în documentația normativă de specialitate pentru ai ajuta să rezolve în mod corect problemele legate cu activitatea lor profesională. Suntem convinși că ediția de față nu realizează pe deplin nici intențiile autorilor, nici exigențele cititorilor; am considerat totuși, că apariția sa este mai importantă decât eventualele imperfecțiuni pe care le cuprinde. Vom fi îndatorați celor care vor contribui, prin sugestii, la îmbunătățirea unei viitoare ediții.

Anexa 1
Aprobat ord. MS şi PS
nr. 517 din 14.12.2006

Partea 1

DOCUMENTE NORMATIVE ALE SERVICIULUI DE LABORATOR

CAPITOLUL 1

Regulamentul privind laboratorul de diagnostic clinic

1.1. Regulamentul privind laboratorul de diagnostic clinic

1. Laboratorul de diagnostic clinic (în continuare – LDC) este o subdiviziune de diagnosticare medicală a instituţiei medico-sanitare cu statutul de secţie.

2. LDC, indiferent de modul de subordonare şi forma de proprietate, trebuie să deţină certificat referitor la tipul de activitate declarat.

3. Administrarea LDC se efectuează de către şeful laboratorului, care este numit şi eliberat din funcţie de către conducătorul instituţiei în conformitate cu legislaţia în vigoare.

4. Activitatea LDC este reglementată de documentele normative în vigoare şi de prezentul regulament.

5. Statele LDC se stabilesc în conformitate cu prevederile actelor normative în vigoare, randamentul şi specificul tipurilor de investigaţii înfăptuite, ţinând cont de tipul instituţiei medico-sanitare sau se calculează după volumul de lucru efectuat.

6. Dotarea LDC cu echipament, reactivi şi articole de laborator se efectuează în conformitate cu profilul şi nivelul instituţiei medicale.

7. LDC se amplasează în încăperi special amenajate, care trebuie să corespundă pe deplin cerinţelor normelor sanitare de construcţie, regulamentelor de exploatare a tehnicii şi securităţii specifice laboratorului.

8. Randamentul de lucru a personalului se determină în dependenţă de profilul examinărilor efectuate în laborator, regulamentul atribuţiilor de serviciu, ţinându-se cont de normativele de timp calculate la efectuarea examenelor de laborator.

9. Sarcinile de lucru ale personalului sunt determinate de obiectivele laboratorului, regulamentul atribuţiilor de serviciu şi totodată de normele de timp calculate la efectuarea examenelor de laborator.

10. Sarcinile de bază ale LDC sunt:

- efectuarea examenelor de laborator (investigaţii clinice generale, hematologice, imunologice, citologice, biochimice, microbiologice, etc.) în conformitate cu profilul laboratorului şi cu tipurile de cercetări declarate la acreditarea laboratorului sau licenţierea instituţiei. Tipurile şi numărul de cercetări efectuate nu trebuie să fie mai mic decât cantitatea minimală recomandată pentru instituţia medicală de nivelul dat;
- implementarea în practică a formelor progresive de muncă, a metodelor moderne de investigare cu o înaltă precizie analitică şi siguranţă diagnostică;
- asigurarea şi îmbunătăţirea calităţii investigaţiilor de laborator prin efectuarea sistematică a controlului intern de calitate şi participarea cel puţin o dată pe trimestru în programele de evaluare externă a calităţii;
- acordarea ajutorului consultativ medicilor clinicieni la selectarea celor mai informative metode de diagnostic clinic şi totodată la interpretarea rezultatelor analizelor de laborator primite la examinarea pacienţilor;
- asigurarea personalului medical antrenat în recoltarea probelor biologice cu instrucţiuni detaliate privitor la regulile de prelevare, păstrare şi transportarea acestora, care garantează stabilitatea eşantioanelor (probelor) şi veridicitatea rezultatelor explorărilor de laborator. Şefii de subdiviziuni (secţii) poartă responsabilitatea pentru respectarea strictă a prevederilor acestor instrucţiuni de către personalul medical;
- ridicarea nivelului de calificare a personalului laboratorului de diagnostic clinic;
- realizarea şi respectarea măsurilor de protecţie a personalului şi populaţiei, a normelor de igienă şi securitate, a regimului antiepidemic în LDC;
- îndeplinirea documentaţiei de evidenţă şi dare de seamă în conformitate cu registrele şi formularele aprobate.

11. În conformitate cu sarcinile menţionate, LDC efectuează:

- însuşirea, valorificarea, aplicarea în practică a metodelor de diagnostic de laborator clinic, care corespund profilului şi nivelului instituţiei medicale;
- efectuarea investigaţiilor de laborator, eliberarea rezultatelor şi a concluziilor în baza datelor obţinute.

12. LDC are dreptul:

- de a efectua pe bază de contract explorări de laborator pentru alte instituţii medicale;
- de a participa în diferite sisteme de control extern al calităţii cercetărilor de laborator clinic;
- de a participa la elaborările ştiinţifice, efectuate în baza datelor obţinute în laborator (rezultatele cercetărilor obţinute în laborator prezintă proprietatea lui intelectuală şi nu pot fi folosite fără acordul laboratorului).

1.2. Fişa tehnică a laboratorului de diagnostic clinic

" APROB"

Şeful ______________________

(Denumirea instituţiei medico-sanitare)

____

(numele, prenumele)

"____" ______________200____

Fişa tehnică

____

(denumirea LDC)

Şeful LDC ______________

(semnătura)

Formular Nr. 1 la fişa tehnică

DATE INFORMATIVE DESPRE LABORATORUL DE DIAGNOSTIC CLINIC

1. Denumirea laboratorului de diagnostic clinic (LDC).
2. Adresa juridică.
3. Numele, prenumele şefului LDC, numărul de telefon.
4. Denumirea instituţiei medico-sanitare din care face parte LDC.
5. Datele generale despre instituţia medico-sanitară (regiunea de deservire, profilul, numărul de paturi in spitale (pentru serviciul spitalicesc), numărul de vizite pe schimb (pentru serviciul asistenţă medicală primară şi specializată).
6. Denumirea (profilul) secţiilor (în spital) sau cabinetelor (serviciul asistenţă medicală primară şi specializată).
7. Numele, prenumele directorului instituţiei medico-sanitare, numărul de telefon.
8. Numele, prenumele persoanei responsabile de controlul calităţii în LDC.

Data ______________ Şeful LDC ______________

(semnătura)

Formular Nr. 2 la fişa tehnică

LISTA
investigaţiilor efectuate în LDC şi asigurarea lor cu documente normative (DN)

Nr d/o	Indicele determinat şi materialul de cercetare	DN ale metodei de cercetare	Reactivii folosiţi	Soluţia de referinţă folosită, termenul de valabilitate	Tipul de reactivi
1	2	3	4	5	6

Data ____________________ Şeful LDC ________________
(semnătura)

Notă:
1. În rubrica 3 se indică documentele normative (DN):
- "stand.", dacă se utilizează metoda standardizată aprobată prin ordinul MS;
- "nestand.", dacă se foloseşte metoda nestandardizată, aprobată în ordinea stabilită;
- "instr.", dacă se aplică instrucţiunea la setul de reactivi.

2. În rubrica 5 se indică "lab.", dacă se pregătesc unii reactivi în laborator; "set", dacă se folosesc seturi de reactivi (în acest caz se indică denumirea setului, firma producătoare, nr. după catalog, data producerii şi valabilitatea). Dacă în momentul acreditării lipsesc seturile de reactivi, se indică seturile folosite mai înainte.

3. În rubrica 6 se indică "set", dacă soluţiile de referinţă întră în componenţa setului, sau "stand.", denumirea, firma producătoare, nr. după registru, dacă soluţia de referinţă se pregăteşte în laborator.

Formularul Nr. 3 la fişa tehnică

Componenţa şi nivelul de calificare a personalului LDC

Nr. d/o	Funcţia numele şi pronumele	Componenţa personalului			Studii	Specialitatea după diplomă	Reciclarea în ultimii 5 ani	Categoria de calificare, titlul ştiinţific
		Salarii după state	Salarii ocupate	Pers. fizice				
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Şeful LDC							
2	Medici de laborator							
3	Medici bacteriologi (virusologi):							
4	Felceri-laboranţi							
5	Laboranţi							
6	Infirmiere şi alte funcţii							

Data ____________________ Şeful LDC ________________
(semnătura)

Formular Nr. 4 la fişa tehnică

Înzestrarea LCD cu aparataj şi utilaj de măsurare

Nr. d/o	Denumirea aparatajului şi utilajului de măsurare (tipul, modelul)	Firma producătoare, ţara	Data punerii în funcţiune	Cantitatea	Asigurarea metrologică, prezenţa ştampilei de marcare şi a certificatului de control şi atestare	Prezenţa fişei tehnice, instrucţiunilor de exploatare, contractului pentru deservirea tehnică
1	2	3	4	5	6	7

Data ____________________ Şeful LDC ________________
(semnătura)

Notă:
1. În rubrica 2 se indică aparatajul şi utilajul de măsurare – fotocolorimetrele, termometrele, vesela de laborator marcată, dozatoarele etc, clasa lor de precizie.
2. În rubrica 6 se indică numărul certificatului, data efectuării controlului sau atestării.
3. În rubrica 7 pentru utilajul de import se indică documentul care confirmă posibilitatea deservirii tehnice de către specialiştii firmei producătoare sau alţi specialişti special pregătiţi.

Formular Nr. 5 la fişa tehnică

Înzestrarea LDC cu utilaj auxiliar (centrifugi, termostate, frigidere etc.)

Nr. d/o	Denumirea	Tipul, modelul	Producătorul: firma, ţara	Data fabricării şi livrării
1	2	3	4	5

Data ____________________ Şeful LDC ________________
(semnătura)

Formularul Nr. 6 la fişa tehnică

Principalele încăperi de lucru ale LDC şi starea tehnicii de securitate

Destinaţia încăperii, aria, m^2	Specială sau adaptată	Temperatura şi umiditatea	Nivelul zgomotului	Iluminarea locurilor de muncă	Prezenţă vaporilor nocivi	Nivelul zgomotului, vibraţiilor	Dotarea cu utilaj special (ventilatoare etc.)
1	2	3	4	5	6	7	8

1. Suprafaţa totală________________ 2. Anul construcţiei_________________________
3. Prezenţa şi caracteristica scurtă: a încălzirii, apeductului, ventilaţiei, canalizaţiei.
4. Prezenţa instrucţiunilor pentru tehnica securităţii şi igiena muncii ("da", "nu").
5. Prezenţa mijloacelor antiincendiare ("da", "nu").
6. Prezenţa mijloacelor de protecţie individuală ("da", "nu").

Data ____________________ Şeful LDC ________________
(semnătura)

Formularul Nr. 7 la fişa tehnică

Asigurarea controlul intern şi rezultatele obţinute în programele de evaluare externă a calităţii investigaţiilor de laborator

Nr. d/o	Denumirea analiţilor supuşi controlului de calitate	Prezenţa hărţilor de control	Materialele utilizate pentru controlul intern	Periodicitatea măsurărilor de control	Prezenţa certificatelor de participare la controlul extern de calitate
1	2	3	4	5	6

Data ____________________ Şeful LDC ________________
(semnătura)

Notă: 1. În rubrica 4 se indică materialul de control, producătorul, ţara, numărul după registru sau "pregătit în laborator", dacă materialul de control se pregăteşte în laborator.

2. În conformitate cu standardele europene şi internaţionale ***(EN 45001 5.4.4; ISO9001, capitol 25, p.4.16)*** privind arhivarea informaţiei despre rezultatele investigaţiilor de laborator se vor respecta următorii termeni de păstrare a registrelor de evidenţă:

- Formularele de solicitare a analizelor de laborator – 3 luni;
- Registrele de lucru, observaţii şi calcule, imprimările de la analizatoare – nu mai puţin de 3 luni;
- Registrul de evidenţă a investigaţiilor hematologice, clinice generale, biochimice, microbiologice – 3 ani;
- Registrul de evidenţă a investigaţiilor citologice, izoserologice, imunologice, examenul materialului la eliminarea de bacili tuberculoză – 10 ani;
- Rezultatele controlului intern de calitate - nu mai puţin de 1 an;
- Rezultatele controlului extern de calitate – 5 ani;
- Raportul de dare de seamă anual – 5 ani.

CAPITOLUL 2

Regulamentul referitor la specialiştii laboratorului de diagnostic clinic

Exercitarea activităţii de medic în laboratoarele de diagnostic clinic se permite persoanelor , care au absolvit instituţii de învăţământ superior medicale şi au o pregătire postuniversitară profesională specială în diagnosticul de laborator clinic prin rezidenţiat, doctorantură sau specializare.

Medicul de laborator trebuie să posede cunoştinţe clinice temeinice şi să fie bine pregătit în problemele fiziologiei şi fiziopatologiei, biochimiei clinice, histologiei, hematologiei, morfopatologiei, microbiologiei, imunologiei, geneticii medicale, virusologiei etc.

Totodată trebuie de menţionat, că la momentul actual, în schema de state a laboratorului de diagnostic clinic (LDC) pot fi incluşi specialişti cu studii superioare nemedicale care au obţinut o pregătire specială (specializare) la cursurile de competenţă în diagnosticul de laborator.

Specialiştii cu studii superioare nemedicale care au fost admişi în modul stabilit la exercitarea funcţiei de medic de laborator şi care au activat în LDC până la data semnării acestui ordin îşi păstrează dreptul de a activa şi mai departe conform posturilor ocupate inclusiv cele de conducere. Totodată ei îşi păstrează dreptul la ridicarea nivelului profesional la cursurile de perfecţionare postuniversitare şi de a fi atestaţi la categoriile de calificare în conformitate cu posturile ocupate.

Luând în consideraţie caracterul pregătirii profesionale, calificarea, volumul de cunoştinţe şi dexterităţile practice a specialiştilor se aprobă:

- structura posturilor prevăzute în schemă a colaboratorilor LDC (tabelul 2.1);
- cerinţele faţă de pregătirea specialiştilor, care-şi exercită activitatea profesională în laboratoarele de diagnostic clinic (tabelul 2.2).

Tabel 2.1

Nomenclatura posturilor prevăzute în schema Laboratoarelor de Diagnostic Clinic

	Funcţia de post	Specialitatea conform diplomei
1.	Şef de laborator	Medic
2.	Medic de laborator	Medic
3.	Specialist cu studii superioare în diagnosticul de laborator	Biolog, chimist
4.	Felcer laborant	Felcer-laborant
5.	Laborant	Laborant, asistentă medicală

Tabel 2.2

Cerinţele faţă de pregătirea specialiştilor, care-şi exercită activitatea profesională în LDC

	Pregătirea specială	Postul care poate fi ocupat în laboratorul medical
1.	Studii superioare medicale (medici de toate specialităţile)	Medic de laborator, inclusiv postul de conducere
2.	Studii superioare nemedicale (biologie, chimie).	Specialist cu studii superioare în diagnosticul de laborator
3.	Studii în colegiul de medicină la specialitatea diagnosticul de laborator	Felcer laborant
4.	Studii în colegiul de medicină la specialitatea asistentă medicală	Laborant în LDC

2.1. Atribuţiile de serviciu ale şefului laboratorului de diagnostic clinic

I. Dispoziţii generale

1. În funcţia de şef al laboratorului de diagnostic clinic (LDC) al instituţiei medicale este numit medicul de laborator, care deţine certificatul de specialist şi stagiul de muncă practică în LDC nu mai puţin de 5 ani. Şeful laboratorului specializat trebuie să aibă o pregătire specială prin reciclare la disciplina respectivă a diagnosticului de laborator.

2. Şeful LDC este numit şi eliberat din funcţie de către conducătorul (directorul) instituţiei medico-sanitare în conformitate cu legislaţia în vigoare.

3. În activitatea sa şeful laboratorului se conduce de documentele normative în vigoare şi de prezentul regulament.

II. Şeful laboratorului:

4. Asigură realizarea calitativă şi la timp a investigaţiilor de laborator, efectuând nemijlocit o parte din investigaţii *.

5. Elaborează instrucţiuni de lucru pentru toţi colaboratorii laboratorului în baza regulamentelor stabilite.

6. Efectuează distribuirea lucrului între colaboratori.

7. Controlează lucrul efectuat de colaboratorii laboratorului şi apreciază calitatea lui, luând în consideraţie rezultatele controlului de calitate intra-laborator (intern) şi rezultatele obţinute în programele de evaluare externă; efectuează controlul veridicităţii rezultatelor primite, siguranţei testelor analitice, corectitudinii întocmirii documentaţiei.

8. Asigură implementarea în practică a metodelor noi de lucru.

9. Poartă răspundere de lucrul efectuat de personalul pe care îl conduce.

10. Organizează şi realizează măsuri pentru ridicarea nivelului de calificare a personalului laboratorului la locul de muncă şi în cadrul instituţiilor de învăţământ postuniversitar şi/sau instruire profesională suplimentară.

11. Consultă medicii de alte specialităţi în problemele diagnosticului de laborator.

12. Prezintă administraţiei comanda pentru procurarea utilajului, reactivilor şi materialelor consumabile necesare pentru prestarea lucrului calitativ şi continuu al laboratorului.

13. Organizează utilizarea raţională şi efectivă a tehnicii de laborator şi a reactivilor.

14. Programează şi controlează executarea sistematică în termenii stabiliţi a controlului metrologic al aparatajului şi utilajului de laborator.

15. Duce evidenţa bunurilor materiale, folosirea şi decontarea lor.

16. Controlează respectarea recomandărilor metodice de către personalul instituţiei medicale privitor la recoltarea, transportarea, păstrarea, inactivarea şi neutralizarea materialului biologic.

17. Coordonează cu secţiile clinice şi specialiştii instituţiei medico-sanitare condiţiile privitor la transportarea în laborator a materialului biologic şi eliberarea la timp a rezultatelor investigaţiilor.

18. Poartă răspundere de starea sanitară a laboratorului şi îndeplinirea de către personal a cerinţelor regimului antiepidemic la manipularea cu materialul biologic (sânge, urină, spută, materii fecale etc).

19. Asigură condiţiile de protecţie a muncii colaboratorilor, controlează respectarea regulilor tehnicii de securitate şi igienă a muncii de către personalul laboratorului.

20. Poartă responsabilitatea de efectuarea permanentă a controlului de calitate a investigaţiilor de laborator.

21. Efectuează analiza sistematică a indicilor activităţii laboratorului, pregăteşte şi pune la dispoziţie în termenii stabiliţi dările de seamă despre lucrul efectuat, elaborează în baza lor măsuri privitor la perfecţionarea activităţii laboratorului instituţiei.

III. Drepturile şefului laboratorului

22. Şeful laboratorului are dreptul la încheierea, modificarea, suspendarea şi desfacerea contractului individual de muncă, în modul stabilit de Codul Muncii RM.
23. Să participe la lucrul administraţiei privind selectarea cadrelor pentru laborator, să participe la consfătuiri şi la pregătirea documentelor despre activitatea laboratorului.
24. Să înainteze propuneri către administraţie referitor la perfecţionarea activităţii laboratorului şi ameliorarea condiţiilor de muncă a personalului laboratorului.
25. Să prezinte administraţiei propuneri privitor la premierea sau aplicarea sancţiunilor colaboratorilor laboratorului.
26. Să numească din rândul specialiştilor cu studii medicale medii o persoană responsabilă pentru organizarea lucrului laboranţilor şi personalului medical inferior.
27. Să participe la lucrările sesiunilor ştiinţifice, conferinţe şi congrese.
28. Să participe la cursuri de reciclare şi perfecţionare (cel puţin o data la 5 ani).
29. Periodic, în ordinea stabilită, să susţină atestaţii cu dreptul de a primi categoria de calificare.

Şeful LDC poartă răspundere pentru neîndeplinirea obligaţiilor sale, prevăzute de prezentul regulament şi legislaţia în vigoare.

* - *Pentru şefii LDC poate fi stabilit un volum de lucru diferenţiat la efectuarea investigaţiilor de laborator în dependenţă de condiţiile locale, de exemplu pentru şefii de laboratoare în lista de state a cărora sunt 7-10 persoane (medici de laborator, specialişti cu studii superioare nemedicale, felceri-laboranţi, laboranţi) acest volum poate constitui 50% din timpul de lucru; în caz dacă numărul colaboratorilor depăşeşte 10 persoane (medici de laborator, specialişti cu studii superioare nemedicale, felceri-laboranţi, laboranţi) - volumul de lucru se reduce până la 25% (ori se îndeplineşte lucrul consultativ).*

2.2. Atribuţiile de serviciu ale medicului de laborator în laboratorul de diagnostic clinic

I. Dispoziţii generale

1. În funcţia de medic de laborator clinic este numit specialistul cu studii superioare medicale care are o pregătire specială în diagnosticul de laborator clinic (rezidenţiat, doctorantură, specializare) şi care deţine certificatul de specialist.
2. Medicul de laborator în activitatea sa se conduce de prezentul regulament, precum şi de alte documente normative pe problemele diagnosticului de laborator.
3. Medicul de laborator este numit şi eliberat din funcţie de către conducătorul instituţiei în conformitate cu legislaţia în vigoare.

II. Obligaţiile de serviciu ale medicului de laborator

4. Îndeplineşte investigaţiile de laborator în conformitate cu obligaţiile lui de serviciu.
5. Asigură folosirea metodelor cu cele mai înalte performanţe analitice şi diagnostice.
6. Participă la însuşirea şi aplicarea în practică a metodelor noi de investigaţii şi a echipamentului de laborator.
7. Consultă medicii de alte specialităţi în problemele diagnosticului de laborator.
8. Participă la elaborarea recomandărilor pentru personalul secţiilor clinice ale instituţiei medicale privitor la recoltarea, transportarea şi păstrarea materialului biologic.
9. Controlează lucrul specialiştilor cu studii medii (felcerilor-laboranţi şi laboranţilor).
10. Participă la interpretarea rezultatelor investigaţiilor de laborator.

11. Realizează măsuri în vederea efectuării controlului de calitate intern şi extern ale investigaţiilor de laborator.

12. Efectuează analiza lucrului său precum şi al specialiştilor cu studii medii (felcerilor-laboranţi şi laboranţilor).

13. Pregăteşte dări de seamă lunare despre lucrul efectuat, participă la pregătirea dărilor de seamă anuale.

14. Efectuează instruirea specialiştilor cu studii medii (felcerilor-laboranţi şi laboranţilor) cu scopul ridicării nivelului lor de calificare.

15. Controlează îndeplinirea de către personalul medical a regulilor tehnicii de securitate, igienei muncii şi respectarea regimului antiepidemic.

16. Periodic trebuie să-şi ridice nivelul de calificare la cursurile de perfecţionare (cel puţin o data la 5 ani).

III. Drepturile medicului de laborator

17. Medicul de laborator are dreptul la încheierea, modificarea, suspendarea şi desfacerea contractului individual de muncă, în modul stabilit de Codul Muncii RM.

18. Să înainteze propuneri şefului LDC privitor la perfecţionarea organizării lucrului şi îmbunătăţirea condiţiilor de muncă în laborator.

19. Să înlocuiască funcţia de şef al LDC în timpul concediului ori în caz de boală a acestuia.

20. La formare profesională, reciclare şi perfecţionare conform Codului Muncii şi altor acte normative.

21. Periodic, în ordinea stabilită, să susţină atestaţii cu dreptul de a primi categoria de calificare.

22. Să participe la consfătuiri la care se discută problemele referitoare la activitatea laboratorului.

23. Să primească informaţiile necesare pentru îndeplinirea obligaţiilor sale de serviciu, la informare deplină şi veridică despre condiţiile de muncă şi cerinţele faţă de protecţia muncii la locul de muncă.

24. Să participe la lucrările sesiunilor ştiinţifice, conferinţelor şi congreselor.

Medicul de laborator poartă răspundere pentru neîndeplinirea obligaţiilor sale, prevăzute de prezentul regulament şi legislaţia în vigoare.

2.3. Atribuţiile de serviciu ale specialistului cu studii superioare nemedicale în laboratorul de diagnostic clinic

I. Dispoziţii generale

1. În funcţia de specialist cu studii superioare nemedicale în laboratorul de diagnostic clinic este numit specialistul cu studii superioare nemedicale, care a însuşit programa de pregătire în diagnosticul de laborator clinic şi care a obţinut certificatul de specialist în domeniul menţionat.

2. Specialistul cu studii superioare nemedicale în activitatea sa se conduce de prezentul regulament, precum şi de alte documente normative pe problemele diagnosticului de laborator.

3. Specialistul cu studii superioare nemedicale este numit şi eliberat din funcţie de către conducătorul instituţiei în conformitate cu legislaţia în vigoare.

II. Obligaţiile de serviciu ale specialistului cu studii superioare nemedicale

4. Îndeplineşte investigaţiile de laborator în conformitate cu obligaţiile de serviciu încredinţate.

5. Participă la însuşirea şi aplicarea în practică a metodelor noi de investigaţii şi a echipamentului de laborator.

6. Controlează lucrul specialiştilor cu studii medii (felcerilor-laboranţi şi laboranţilor).

7. Participă la efectuarea controlului intern şi extern de calitate.

8. Pregăteşte dări de seamă lunare despre lucrul efectuat, participă la pregătirea dărilor de seamă anuale.

9. Efectuează instruirea specialiştilor cu studii medii (felcerilor-laboranţi şi laboranţilor) cu scopul ridicării nivelului lor de calificare.

10. Periodic trebuie să-şi ridice nivelul de calificare la cursurile de perfecţionare (cel puţin o data la 5 ani).

III. Drepturile specialistului cu studii superioare nemedicale

11. Specialistul cu studii superioare nemedicale are dreptul la încheierea, modificarea, suspendarea şi desfacerea contractului individual de muncă, în modul stabilit de Codul Muncii RM.

12. Să înainteze propuneri şefului LDC privitor la perfecţionarea organizării lucrului şi îmbunătăţirea condiţiilor de muncă în laborator.

13. Periodic, în ordinea stabilită, să susţină atestaţii cu dreptul de a primi categoria de calificare.

14. Să participe la consfătuiri la care se discută problemele referitoare la activitatea laboratorului.

15. Să primească informaţiile necesare pentru îndeplinirea obligaţiilor de serviciu.

16. Să participe la lucrările sesiunilor ştiinţifice, conferinţelor şi congreselor.

Specialistul cu studii superioare poartă răspundere pentru neîndeplinirea obligaţiilor sale, prevăzute de prezentul regulament şi legislaţia în vigoare.

2.4. Atribuţiile de serviciu ale felcerului-laborant

I. Dispoziţii generale

1. În funcţia de felcer-laborant este numită persoana cu studii medicale medii, care are o pregătire specială în diagnosticul de laborator şi care a absolvit colegiul de medicină sau şcoala medicală.

2. Felcerul-laborant este numit şi eliberat din funcţie de către conducătorul instituţiei în conformitate cu legislaţia în vigoare.

3. Felcerul-laborant se supune şefului LDC şi nemijlocit medicului LDC.

II. Obligaţiile felcerului-laborant :

3. Pregăteşte pentru lucru reactivi, vesela de laborator, aparatajul, soluţiile dezinfectante.

4. Înregistrează primirea materialului biologic în laborator, inclusiv cu folosirea tehnicii de calcul (computerului), efectuează prelucrarea şi pregătirea bioprobelor pentru cercetări.

5. Efectuează colectarea sângelui din deget de la pacienţi.

6. Îndeplineşte investigaţiile de laborator la compartimentul determinat de şeful laboratorului în conformitate cu cerinţele de calificare şi normativele în vigoare.

7. Efectuează sterilizarea instrumentarului de laborator în conformitate cu instrucţiunile în vigoare.

8. Completează documentaţia necesară.

9. Execută însărcinările şefului LDC privitor la asigurarea tehnico-materială a laboratorului.

10. Este obligat să respecte regulile tehnicii de securitate, igienei muncii şi a regimului antiepidemic conform cerinţele regulamentelor în vigoare.

11. Este obligat să-şi ridice sistematic nivelul profesional la cursurile de perfecţionare (cel puţin o dată în 5 ani).

III. Drepturile felcerului-laborant :

12. Felcerul laborant are dreptul la încheierea, modificarea, suspendarea şi desfacerea contractului individual de muncă, în modul stabilit de Codul Muncii RM.

13. Să înainteze propuneri în vederea perfecţionării organizării lucrului şi îmbunătăţirii condiţiilor de muncă.

14. Periodic, în ordinea stabilită, să susţină atestaţii cu dreptul de a primi categoria de calificare corespunzătoare.

Felcerul-laborant poartă răspundere pentru neîndeplinirea obligaţiilor sale, prevăzute de prezentul regulament şi legislaţia în vigoare.

2.5. Atribuţiile de serviciu ale laborantului

I. Dispoziţii generale

1. În funcţia de laborant este numit specialistul cu studii medicale medii, sau specialiştii cu alte studii admişi la lucru în calitate de laboranţi, care au trecut o pregătire specială în diagnosticul de laborator.
2. Laborantul este numit şi eliberat din funcţie de către conducătorul instituţiei în conformitate cu legislaţia în vigoare.
3. Laborantul se supune şefului LDC şi nemijlocit medicului de laborator.

II. Obligaţiile laborantului

4. Pregăteşte pentru lucru reactivi, vesela de laborator, aparatajul, soluţiile dezinfectante.
5. Înregistrează primirea materialul biologic în laborator, inclusiv cu folosirea tehnicii de calcul (compututerului), efectuează prelucrarea şi pregătirea bioprobelor pentru cercetări.
6. Efectuează colectarea sângelui din deget de la pacienţi.
7. Îndeplineşte investigaţiile de laborator la compartimentul determinat de şeful laboratorului în conformitate cu cerinţele de calificare şi normativele în vigoare.
8. Efectuează sterilizarea instrumentarului de laborator în conformitate cu instrucţiunile în vigoare.
9. Completează documentaţia necesară.
10. Este obligat să respecte regulile tehnicii de securitate, igienei muncii şi a regimului antiepidemic conform cerinţele regulamentelor respective.
11. Este obligat să-şi ridice sistematic nivelul profesional la cursurile de perfecţionare (cel puţin o dată la 5 ani).

III. Drepturile laborantului:

12. Laborantul are dreptul la încheierea, modificarea, suspendarea şi desfacerea contractului individual de muncă, în modul stabilit de Codul Muncii RM. Să înainteze propuneri în vederea îmbunătăţirii lucrului său.
13. Periodic, în ordinea stabilita, să susţină atestaţii cu dreptul de a primi categoria de calificare corespunzătoare.

Laborantul poartă răspundere pentru neîndeplinirea obligaţiilor sale, prevăzute de prezentul regulament şi legislaţia în vigoare.

2.6 Atribuţiile de serviciu ale specialistului principal netitular în serviciul de laborator al organului teritorial al direcţiei sănătăţii

I. Dispoziţii generale

1. Specialistul principal netitular în serviciul de laborator clinic (în continuare - specialistul principal) este numit medicul de laborator clinic care deţine categoria de calificare superioară sau prima, titlu ştiinţific şi care are experienţă în lucrul organizatoric.

2. Specialistul principal este numit în funcţie de către conducătorul organului teritorial al Direcţiei Sănătăţii.

3. Specialistul principal lucrează conform planului aprobat de organul teritorial al Direcţiei Sănătăţii, anual pregăteşte darea de seamă despre lucrul efectuat.

4. Specialistul principal se conduce în activitatea sa de ordinele şi indicaţiile organului teritorial al Direcţiei Sănătăţii, de actele legislative şi normative în vigoare şi de prezentul regulament.

II. Sarcinile de bază ale specialistului principal:

5. Elaborarea şi efectuarea măsurilor orientate spre ameliorarea şi sporirea eficienţei serviciului de laborator în teritoriu.

6. Promovează aplicarea în practica instituţiilor medicale a metodelor noi de investigaţii, a formelor organizatorice şi metodelor noi de lucru, participă la elaborarea algoritmilor de diagnostic.

7. Controlul utilizării raţionale şi efective a resurselor materiale şi a cadrelor în serviciul de laborator.

8. Organizează şi dirijează activitatea Consiliului de Laborator de pe lîngă organul teritorial al Direcţiei Sănătăţii. Consiliul de Laborator va fi format din specialiştii subdisciplinelor diagnosticului de laborator clinic (hematologie, biochimie, imunologie, etc.).

III. Obligaţiile specialistului principal:

9. Analizează starea şi calitatea serviciului de laborator în teritoriu, acordă ajutor practic laboratoarelor. Efectuează analiza sistematică a indicilor activităţii serviciului de laborator în teritoriu. Pregăteşte în termenii stabiliţi şi pune la dispoziţia organelor teritoriale ale Direcţiei Sănătăţii dările de seamă despre lucrul efectuat, elaborează în baza lor măsurile necesare pentru perfecţionarea activităţii laboratoarelor.

10. Participă la elaborarea planurilor strategice de dezvoltare şi perfecţionare a serviciului de laborator.

11. Participă la elaborarea documentelor normative în ceea ce priveşte diagnosticul de laborator în teritoriu, aprobate de organul teritorial al Direcţiei Sănătăţii.

12. Efectuează conducerea metodică a Centrului organizator-metodic şi controlului inter-laborator de calitate a investigaţiilor de laborator din teritoriu.

13. Evaluează necesităţile LDC din teritoriu în utilaj şi echipament de laborator şi înaintează propuneri privitor la ameliorarea bazei tehnico-materiale a LDC.

14. Acordă ajutor LDC din teritoriu la însuşirea şi aplicarea în practică a metodelor noi de investigaţii de laborator cu cea mai înalta siguranţă analitică şi eficacitate diagnostică.

15. Evaluează rezultatele controlului inter-laborator de calitate obţinute de LDC din teritoriu; participă la elaborarea şi realizarea programelor controlului extern de calitate.

16. Participă la acreditarea şi licenţierea LDC, efectuează controlul pregătirii acestora pentru acreditare, acordă ajutor conducătorilor instituţiilor medico-sanitare din teritoriu la pregătirea laboratoarelor pentru acreditare şi licenţiere.

17. Participă la elaborarea planurilor pentru ridicarea calificării specialiştilor laboratoarelor de diagnostic clinic din teritoriu.

18. Participă la elaborarea standardelor medicale şi a tarifelor investigaţiilor de laborator.

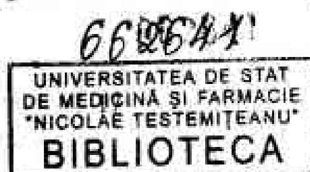
19. Participă la seminare şi consfătuiri pe problemele actuale ale diagnosticului de laborator clinic.

20. Organizează şi efectuează seminare cu şefii LDC, care participă la controlul inter-laborator de calitate.

21. Organizează colaborarea cu alte secţii diagnostice şi clinice ale instituţiilor medico-sanitare din teritoriu în vederea perfectării şi extinderii posibilităţilor procesului diagnostic şi curativ.

IV. Drepturile specialistului principal:

22. Specialistul principal are dreptul să primească toată informaţia necesară pentru studierea activităţii LDC din teritoriu (regiune).



23. Să coordoneze activitatea specialiştilor principali din LDC a instituţiile subordonate organelor locale ale Direcţiei Sănătăţii.

24. Să înainteze conducătorilor organele locale ale Direcţiei Sănătăţii propuneri privind dezvoltarea serviciului de laborator din teritoriu.

25. Să organizeze evaluarea calităţii investigaţiilor efectuate de LDC din teritoriu.

26. Să controleze periodic activitatea LDC din teritoriu.

2.7 Codul deontologic medical internaţional al Asociaţiei Medicale Mondiale

I. Obligaţiile generale ale medicului

1. Medicul trebuie să-şi impună cele mai înalte cerinţe în comportamentul profesional.

2. Medicul, în interesul pacientului, trebuie să nu se lase atras de interese financiare în exercitarea liberă a practicii medicale.

3. Medicul trebuie să se străduiască să realizeze, în toate domeniile practicii medicale, servicii adecvate, în totală independenţă şi cu un deosebit respect pentru fiinţa umană.

4. Medicul trebuie să fie cinstit în relaţiile sale cu colegii şi cu pacienţii şi să se străduiască să descopere lipsuri de caracter sau profesionale la colegi, sau acte de ducere în eroare şi de înşelătorie.

5. Medicul trebuie să respecte drepturile pacientului, a colegilor şi a celuilalt personal sanitar şi să păstreze secretele pe care i le-au încredinţat pacienţii.

6. Medicul trebuie să-şi desfăşoare activitatea numai în interesul pacientului, în special dacă terapia aplicată va avea drept consecinţă o diminuare a capacităţilor fizice şi psihice ale acestuia.

7. Medicul trebuie să fie prudent în legătură cu unele comunicări despre o serie de descoperiri medicale, privind procedeele de diagnostic şi tratament care se transmit prin alte canale decât cele medicale.

8. Medicul trebuie să se bazeze numai pe cunoştinţele sale dobândite de el personal.

II. Se consideră ca neetice următoarele activităţi:

a) reclamă medicală, cu excepţia celei permise de legislaţia ţării respective şi aprobate de organizaţiile medicale naţionale;

b) plata unor sume pentru cedarea sau trimiterea pacientului unui alt medic pentru tratament.

III. Obligaţiile medicului faţă de bolnavi

9. Medicul trebuie să fie permanent conştient de obligaţia sa de a proteja viaţa pacienţilor.

10. El are obligaţia să fie loial pacienţilor săi şi să asigure toate mijloacele terapeutice, în raport cu rezultatele ştiinţei medicale. Dacă stabilirea unui diagnostic sau prescrierea unui tratament depăşeşte cunoştinţele şi posibilităţile sale, să apeleze la ajutorul altui medic.

10. Medicul va păstra secretul datelor pacienţilor săi, chiar şi după moartea acestora.

12. Medicul va asigura asistenţa de urgenţă necesară, cu excepţia situaţiei în care constată că aceasta a fost acordată corect de alt coleg.

IV. Obligaţiile medicului faţă de colegi

13. Medicul trebuie să se comporte cu colegii săi precum se aşteaptă să se comporte şi ei cu el. Medicul nu are voie să atragă pacienţii altui medic.

14. Medicul trebuie să respecte toate principiile "Jurământului de la Geneva" al Asociaţiei Medicale Mondiale.

CAPITOLUL 3

Tehnica de securitate şi igiena muncii

3.1 Instrucţiuni privind tehnica de securitate, securitatea antiincendiară şi igiena muncii

I. Dispoziţii generale

1. Prevederile prezentelor instrucţiuni se extind asupra tuturor laboratoarele de diagnostic clinic (LDC) din instituţiile medico-sanitare ale Republicii Moldova. Conducerea instituţiei medicale şi şeful LDC poartă responsabilitate pentru respectarea acestor instrucţiuni de către personalul angajat în laboratoarele de diagnostic clinic.

2. Şeful LDC în conformitate cu acest regulament este obligat să elaboreze instrucţiuni detaliate pentru personalul ce activează în diferite compartimente ale LDC, ţinând cont de specificul lucrărilor practicate. Instrucţiunile trebuie să fie aprobate de conducătorul instituţiei şi expuse într-un loc văzut în fiecare compartiment sau sector de lucru. Şeful LDC controlează respectarea măsurilor de igienă şi protecţie a muncii de către colaboratorii din LDC.

3. Persoanele recent angajate în LDC sunt admise la locul de muncă numai după instruirea şi verificarea cunoştinţelor privind tehnica de securitate şi igiena muncii. Instruirea repetată a personalului angajat în laborator se face cel puţin o dată pe an.

4. Evidenţa orelor de instruire se notează într-un registru special.

5. Încăperile LDC sunt utilizate conform destinaţiei, efectuarea altor lucrări în încăperile LDC sint interzise.

II. Înzestrarea şi întreţinerea încăperilor LDC

6. Nu se permite organizarea unui laborator în încăperile amplasate în subsol şi demisol. Laboratorul trebuie să dispună de 2 întrări separate (pentru personal şi pentru pacienţi).

7. Planificarea încăperilor LDC şi suprafaţa lor trebuie să corespundă prevederilor normativelor şi regulilor de construcţie, aprobate în ordinea stabilită.

8. Laboratorul trebuie să fie asigurat cu conductă de apă (apeduct), alimentare cu apă caldă, canalizare, încălzire centralizată şi instalaţii de gaze naturale. În localităţile care nu sunt asigurate cu apeduct, alimentare cu apă caldă şi canalizare, se instalează conducta locală pentru apă rece, canalizare şi dispozitive de curăţire cu instalaţii de dezinfectare. Instalaţiile de gaze din LDC trebuie să fie înzestrate cu un întrerupător (robinet) comun pentru deconectarea reţelei de gaze la sfârşitul zilei de lucru. Fiecare arzător de gaze de la mesele de lucru şi din nişele de ventilaţie trebuie să fie înzestrat cu un robinet aparte. Arzătoarele de gaze trebuie menţinute în curăţenie şi ordine; ele se demontează periodic şi se curăţă. La întreruperea temporară a alimentaţiei cu gaze toate robinetele de gaze se vor închide imediat.

9. Laboratorul trebuie să fie înzestrat cu lămpi cu spirt. Umplerea lămpii cu spirt cu alcool etilic se va face numai după ce aceasta va fi stinsă, în caz contrar, vaporii de alcool care se elimină în timpul umplerii pot uşor să se aprindă. Lampa cu spirt este înzestrată cu un tub şi inel de metal pentru fitil. Dacă acestea lipsesc, vaporii de alcool din interiorul rezervorului se pot aprinde iar lampa poate să explodeze.

10. Încăperile laboratorului trebuie înzestrate cu aparataj pentru ventilare prin aspiraţie şi pătrundere a aerului cu un nivel jos al zgomotului pentru a nu afecta personalul în lucru. Ventilaţia în încăperile laboratorului trebuie pusă în funcţiune înainte de începerea lucrului.

11. Fiecare fereastră din laborator trebuie să dispună de un oberliht care poate fi deschis uşor (în afară de boxele speciale ale laboratorului bacteriologic). În timp de vară la ferestre se vor instala plase pentru

a împiedica pătrunderea insectelor în încăperi.

12. Pentru a evita inhalarea de vapori toxici sau rău mirositori în încăperile predestinate examinării urinei, sputei, materiilor fecale, precum şi în încăperile unde se înfăptuiesc cercetări biochimice, hematologice, serologice sau hormonale se vor instala nişe de ventilaţie (evacuare) dotate cu un exhaustor care aspiră vaporii şi îi evacuează în afara laboratorului.

13. Viteza de circulaţie a aerului în dulapul (nişa) de evacuare cu fereastra mobilă deschisă la maximum trebuie să fie de 0,3 m/s, iar când se lucrează cu mercurul metalic - 0,4 m/s, cu hidrogenul sulfurat - 0,7 m/s.

14. Fereastra mobilă a dulapului de evacuare se va menţine închisă la maximum în timpul lucrului, şi se va deschide pe scurt timp atunci cînd apare necesitatea deservirii aparatajului şi dispozitivelor amplasate în acest dulap. În astfel de cazuri caz fereastra trebuie fixată bine cu dispozitivele necesare pentru a evita căderea ei accidentală.

15. Nişele de evacuare predestinate lucrului la temperaturi înalte cu folosirea focului se acoperă cu materiale refractare, iar în cazul lucrului cu baze şi acizi - cu materiale anticorosive; pentru a preveni scurgerea acestora în afară, peretele orizontal al nişei de evacuare care serveşte ca masă de lucru se va delimita cu borduri speciale. Măsuri speciale se cer şi la folosirea curentului electric - nişele de evacuare se dotează cu lămpi electrice incluse în armaturi ermetice, iar întrerupătoarele de curent electric se instalează în afara nişei de evacuare. Prizele de curent de asemenea se instalează pe partea laterală a mesei de lucru în afara nişei de evacuare. Firele electrice trebuiesc izolate în tuburi de cauciuc. Robinetele de gaze şi de apă din nişele de evacuare se amplasează pe marginea peretelui din faţă şi se instalează în aşa fel încât să se excludă deschiderea lor accidentală.

16. Temperatura şi normele schimbului de aer în încăperile laboratoarelor de diagnostic clinic se stabilesc în conformitate cu normativele şi regulile de construcţie, aprobate în ordinea stabilită.

17. Încăperile laboratorului trebuie să fie iluminate nemijlocit cu lumină naturală directă. Raportul dintre suprafaţa ferestrelor şi suprafaţa podelei trebuie să fie 1:4 sau 1:5. Iluminarea minim admisibilă a încăperilor LDC trebuie să corespundă normativelor şi regulilor de construcţie, aprobate în ordinea stabilită.

III. Aparatajul şi utilajul LDC

18. Exploatarea aparaturii şi a utilajului de laborator se va efectua în strictă conformitate cu cerinţele instrucţiunilor de lucru descrise în fişele tehnice şi anexate de firmele producătoare la aceste aparate sau utilaj.

19. Carcasele metalice ale aparatelor şi motoarelor electrice (autoclave, centrifugi, dulapuri de uscare, termostate etc) vor fi numaidecât conectate la priza de pământ.

20. Aparatura şi utilajul LDC sunt supuse sistematic controlului tehnic. Exploatarea utilajului şi aparaturii electrice defectate este strict interzisă.

21. Nerespectarea regulilor de exploatare a centrifugilor de laborator duce la accidente, de aceea se vor respecta cu stricteţe următoarele reguli:

a) la introducerea eprubetelor sau paharelor în centrifugă este necesar de a respecta cu stricteţe legea echilibrării acestora în pereche după greutate;

b) înainte de a pune în funcţiune centrifuga electrică se va controla dacă capacul acesteia este bine închis;

c) punerea în circuit a centrifugii se efectuează lin cu ajutorul reostatului, iar după deconectarea centrifugii de la circuit se va permite rotorului să stopeze de sine stătător; frânarea rotorului cu mâna este strict interzisă;

d) la sfârşitul lucrului centrifuga trebuie controlată şi minuţios curăţită.

22. La exploatarea termostatelor se vor lua în consideraţie următoarelor reguli:

a) se interzice introducerea în termostat a substanţelor uşor explozibile şi inflamabile;

b) căpăcelele de siguranţă ale dispozitivelor de reglare nu pot fi scoase în lipsa electricianului;

c) curăţirea termostatului se va face numai după deconectarea lui de la reţeaua electrică.

23. Permutarea şi schimbarea locului frigiderelor şi congelatoarelor se va face doar cu permisiunea specialistului.

24. Reşourile electrice, mufele, becurile Bunzen şi alte dispozitive de încălzire se vor instala pe un material termoizolator. Se interzice de a vărsa pe ele acizi, baze, diverse substanţe uşor inflamabile.

25. La întreruperea aprovizionării cu curent electric este necesar de a deconecta imediat tot aparatajul electric din LDC.

26. Mesele de laborator predestinate cercetărilor microscopice sau altor cercetări de înaltă precizie trebuie instalate lângă ferestre, pentru ca examinările menţionate să se efectueze la lumină naturală directă.

27. Mesele de laborator trebuiesc acoperite cu material impermeabil şi ignifug (care nu arde), rezistent la acţiunea acizilor şi bazelor. În faţa balanţelor analitice se vor instala lămpi electrice.

28. Baloanele cu gaze comprimate trebuiesc dotate cu plase de protecţie.

29. Baloanele cu gaze comprimate nu pot fi instalate în locurile expuse razelor directe ale soarelui, ele nu trebuie lăsate lângă aparatele electrice de încălzire, calorifere, sau să se atingă de firele electrice.

30. Panoul cu inventarul antiincendiar, inclusiv instalaţia hidrantului antiincendiar şi stingătorul cu spumă, se va instala în coridor la un loc vizibil. Totodată, în încăperile laboratorului unde se lucrează cu dispozitive de încălzire, substanţe inflamabile, explozibile de asemenea trebuie de instalat inventarul antiincendiar (extinctor, plapumă, căuş, lopată, nisip, etc.).

31. În caz de incendiu personalul laboratorului trebuie să ia măsuri urgente de lichidare a acestuia, anunţând imediat conducerea laboratorului şi administraţia instituţiei medicale.

32. În localul LDC ***se interzice categoric***:

a) a lăsa fără supraveghere arzătoarele aprinse, aparatele electrice şi dispozitivele de încălzire, a ţinea în apropierea lor tifon, vată, alcool şi alte substanţe uşor inflamabile;

b) a strânge substanţele uşor inflamabile accidental vărsate în prezenţa arzătoarelor aprinse şi a aparatelor electrice de încălzire conectate la reţeaua electrică;

c) a aprinde focul sau a include electricitatea în timp ce în încăpere se simte miros de gaze; mai întâi se va găsi şi înlătura cauza scurgerii de gaze, apoi se va aerisi încăperea;

d) a turna carburant în lampa de spirt fierbinte şi de a folosi lampa, care n-are tub metalic de protecţie;

e) a efectua lucrări, legate de distilarea, extracţia, fărâmiţarea, omogenizarea substanţelor toxice, etc., în timp ce sistemul de ventilaţie este defectat;

f) a ţine capul în interiorul nişei de ventilare în momentul când ea funcţionează;

g) a proba la gust sau a inspira substanţe necunoscute;

h) a apleca capul asupra vasului, în care se află sau fierbe un lichid;

i) a păstra rezervele de substanţe toxice, foarte eficace, uşor inflamabile precum şi soluţiile lor pe mesele de lucru sau stelaje;

j) a păstra şi folosi reactivi fără etichete;

k) a păstra în încăperile de lucru substanţe neidentificate, de provenienţă necunoscută;

l) a mânca, a păstra în laborator sau în frigiderele laboratorului alimente, a fuma în laborator;

m) a păstra lucrurile personale, hainele în laborator şi a lua cu sine la domiciliu îmbrăcămintea de lucru;

n) a lucra fără echipamentul sanitar special şi fără dispozitive de protecţie;

o) a efectua lucrări care nu sunt prevăzute de sarcina şi instrucţiunile de lucru;

p) a usca diferite obiecte pe dispozitivele de încălzire;

q) a bloca şi a ticsi coridoarele şi trecerile, precum şi trecerea spre inventarul antiincendiar.

IV. Păstrarea, evidenţa şi folosirea substanţelor şi soluţiilor toxice, cu efect puternic, corosiv, uşor explozibile şi uşor inflamabile şi lucrările cu materiale infectate

33. Substanţele toxice trebuie păstrate în încăperi speciale, în safeuri sub lacăt cu plombe. Încăperea trebuie să fie înzestrată cu apeduct, canalizare, ventilaţie şi nişă de ventilaţie. Pe ferestrele încăperii, unde se păstrează substanţele toxice, se instalează zăbrele de fier, iar uşile vor fi ferecate. În laboratoarele cu

volum mic de lucru se admite amplasarea unui safeu în camera pentru utilaj tehnic.

34. După terminarea lucrului substanţele deosebit de toxice trebuiesc depuse în safeuri, unde ele se vor păstra.

35. Cheile de la încăperi şi safeuri, unde se păstrează substanţele toxice, precum şi ştampila şi plombele se află la persoana responsabilă de evidenţa şi păstrarea substanţelor toxice. Responsabil de evidenţa, păstrarea şi folosirea substanţelor toxice este şeful LDC, iar în lipsa lui - persoana împuternicită de a conduce laboratorul.

36. Persoana, responsabilă pentru păstrarea substanţelor toxice, este obligată să verifice personal coincidenţa cantităţii substanţelor toxice primite de LDC cu cea fixată în documentaţia de însoţire.

37. Accesul în încăperea, unde se păstrează rezervele de substanţe toxice, se permite doar persoanelor, care nemijlocit lucrează cu aceste substanţe, cea ce se legalizează printr-un ordin pe instituţie.

38. Substanţele toxice trebuie înregistrate conform indexului de materii cantitativ în registre speciale de evidenţă, cusute, numerotate, aprobate prin semnătura şi ştampila conducătorului instituţiei;

Evidenţa substanţelor toxice se duce după forma:

a) s-a luat la evidenţă (data, de unde s-a primit, nr. bonului de livrare, cantitatea);

b) s-a eliberat (data, cui s-a eliberat, cantitatea, pentru ce scop, semnătura persoanei ce a primit substanţa);

c) cantitatea rămasă la evidenţă (rest).

În acelaşi mod se duce registrul de evidenţă a substanţelor şi soluţiilor foarte eficace, periculoase, inflamabile, explozibile.

39. Eliberarea substanţelor toxice pentru lucru se înfăptuieşte conform dispoziţiei în scris a conducătorului instituţiei şi bonului de comandă, semnate de şeful LDC cu indicaţia numelui şi prenumelui persoanei, care primeşte aceste substanţe. Totodată pe fiecare ambalaj se vor lipi etichete pe care se indică:

a) denumirea reactivului toxic;

b) imaginea craniului cu oase încrucişate şi inscripţia ***"TOXIC"*** şi ***"A SE COMPORTA CU DEOSEBITĂ ATENŢIE"***.

40. Lucrul cu substanţele toxice poate fi încredinţat numai persoanelor, care au trecut un instructaj special.

41. Împachetarea, fărâmiţarea şi cântărirea substanţelor toxice şi foarte eficace se înfăptuieşte sub nişa de ventilaţie cu ajutorul utilajului şi veselei, special predestinate pentru aceste scopuri (cântare, pâlnii, baloane, pahar etc.).

42. Încălzirea substanţelor toxice se va face în baloane cu fundul rotund. Încălzirea baloanelor la foc deschis este interzisă.

43. Lucrul cu substanţele toxice se efectuează în mănuşi de cauciuc, ochelari de protecţie, iar în caz de necesitate, se foloseşte masca antigaz.

44. Umplerea vaselor cu substanţe toxice, acizi şi baze concentrate trebuie efectuată cu ajutorul sifonului, pipetelor speciale sau parelor de cauciuc.

45. După finisarea lucrului trebuie de spălat minuţios mâinile, iar în cazuri speciale se vor spăla dinţii şi se va clăti cavitatea bucală cu apă.

46. Soluţiile concentrate de acizi se păstrează în vase speciale de sticlă (butelii, sticluţe) cu dopuri şlefuite de sticlă, deasupra cărora se îmbracă un manşon de sticlă rodat.

47. În cazul când substanţa toxică sau periculoasă nimereşte pe echipamentul sanitar special, prosoape, acestea trebuiesc imediat schimbate şi trimise pentru a fi neutralizate şi spălate.

48. Bazele se păstrează în butelii cu gâtul larg de culoare brună, astupate cu dopuri de plută, acoperite cu un strat de parafină.

49. Vesela pentru folosirea substanţelor toxice, bazelor, acizilor, trebuie să fie marcată şi să aibă inscripţii clare. Fiolele, buteliile, borcanele cu substanţe volatile se vor deschide numai în momentul utilizării lor.

50. Deschiderea vaselor cu acizi concentraţi şi baze şi pregătirea soluţiilor se permite numai sub nişa de ventilaţie după includerea în circuit a sistemului de ventilaţie forţată.

51. Bazele se scot din borcanul în care se păstrează numai cu spatula.

52. La pregătirea soluţiilor de baze substanţa cântărita se introduce pe fundul păharului de sticlă gradat, apoi se toarnă cantitatea necesară de apă distilată; conţinutul păharului se amestecă minuţios cu o baghetă de sticlă până la dizolvarea completă a substanţei solide.

53. La diluarea acizilor concentraţi, pentru a evita împroşcarea, acidul se toarnă în apă şi nici într-un caz nu se poate proceda invers.

54. Vasele cu acizi, baze şi alte substanţe corosive trebuiesc transportate de două persoane în lăzi speciale, sau coşuri, sau transportate pe cărucioare speciale.

55. Pentru a transfera dintr-un vas în altul acizi, soluţii concentrate de bază sau alte soluţii agresive, se vor folosi sifoane speciale.

56. La manipularea cu acizi şi baze se interzice pipetarea lichidului fără pară (cu gura). Pentru măsurarea unor volume de lichid cu pipeta este necesar de a se folosi de para de cauciuc cu tub.

57. La fierberea soluţiilor şi până la răcirea lor completă, se interzice de a astupa cu dopuri vasele (baloanele, eprubetele) în care se află aceste soluţii.

58. Pentru a evita împroşcarea produsă de fierberea lichidului, turnat în eprubetă şi încălzit la foc, este necesar ca această eprubetă se fie îndreptată cu partea deschisă în partea opusă persoanelor din jur şi de la sine.

59. La vărsarea substanţelor netoxice este suficientă ştergerea mesei de lucru cu o cârpă, îmbrăcând numaidecât mănuşile de cauciuc, apoi cârpa se clăteşte bine, iar masa şi mănuşile se vor spăla cu apă.

60. Dacă soluţia de bază alcalină s-a vărsat accidental, ea trebuie imediat presurată cu nisip sau rumeguş de ferestrău, apoi pe locul acesta se toarnă o soluţie puternic diluată de acid clorhidric sau acetic. După aceea acidul se înlătură cu o cârpă, iar masa şi mănuşile se spală cu apă.

61. Acidul vărsat întâmplător se va presura cu nisip (se interzice folosirea rumeguşului de ferestrău), apoi nisipul îmbibat cu acid se înlătură cu o lopăţică. În continuare locul se prelucrează cu carbonat de sodiu, iar după ce acesta se înlătură, locul se spală cu o cantitate mare de apă.

62. Soluţiile, folosite pentru neutralizarea acizilor concentraţi şi bazelor trebuie păstrate la un loc vizibil pe stelaje pe tot parcursul zilei de lucru.

63. Substanţele uşor explozibile şi inflamabile trebuie păstrate în vase (butelii, borcane, sticle) cu pereţii groşi care la rândul lor se plasează în lăzi de metal (case de fier), căptuşite cu azbest. Ultimele se vor păstra la distanţă de suprafeţele ce emană căldură şi departe de trecere. Accesul spre lada de metal (casa de fier) trebuie să fie comod. Aceşti reactivi trebuie să fie ermetic închişi. În caz de necesitate dopurile se acoperă cu parafină. La astuparea reactivilor cu dopuri trebuie de luat în consideraţie proprietăţile reactivilor. Astfel, dopurile de cauciuc sub acţiunea unor substanţe (alcool, benzen, acetonă, eter) se umflă puternic. Sub acţiunea halogenilor (brom, iod) dopurile de cauciuc devin fragile, îşi pierd elasticitatea. De aceea se recomandă ca aceşti reactivi să fie acoperiţi cu dopuri de sticlă.

Bazele alcaline nu pot fi acoperite cu dopuri şlefuite de sticlă, deoarece suprafaţa internă a vasului contactează cu baza, şi sub acţiunea bioxidului de carbon între dop şi gâtul vasului se formează carbonaţi, care fixează puternic dopul.

64. Dacă reactivul este sensibil la lumină (de exemplu: bromura de argint, nitratul de argint, peroxidul de hidrogen, tiosulfatul etc.) atunci el se păstrează în sticle de culoare închisă. Vasul din sticla incoloră poate fi acoperit cu hârtie neagră şi păstrat într-un dulap impenetrabil pentru lumină.

65. Substanţele uşor inflamabile cu punctul de fierbere scăzut (acetona, eterul etilic, alcoolii etc.) vor fi distilate sau încălzite în baloane cu fundul rotund din sticlă refractară pe băi, umplute cu purtători de căldură corespunzători (apă, ulei) şi în dependenţă de temperatura de fierbere a substanţei date. Se interzice afundarea balonului cu substanţe uşor inflamabile în apa fierbinte fără încălzirea lui prealabilă treptată.

66. Lucrările cu substanţele şi soluţiile uşor inflamabile se efectuează sub nişa de ventilaţie pusă în funcţiune, cu ferestrele lăsate în jos, cu arzătoarele de gaz şi aparatele electrice deconectate.

67. Pentru a evita "aruncarea" lichidului distilat, în balon se pun capilare de sticlă sau bucăţele de piatră ponce fiartă şi uscată.

68. Înainte de a începe distilarea substanţelor inflamabile la început se dă drumul apei reci în refrige-

rent, iar încălzirea se va include atunci când torentul de apă s-a stabilit. Balonul recipientului se pune pe tava cu nisip. Se interzice lăsarea distilatorul fără supraveghere.

69. Vesela, în care s-au efectuat lucrări cu substanțe ușor inflamabile și explozibile trebuie spălată imediat după terminarea acestora.

70. Vesela de sticlă poate fi spălată prin diferite metode: la început se curăță mecanic cu peria pentru spălat în așa fel încât să nu se zgârie pereții și fundul veselei. După prelucrarea mecanică vesela se prelucrează prin metoda chimică: se scufundă în soluție de detergent ori soluție de săpun amestecată cu carbonat de sodiu sau fosfat de sodiu. Se procedează așa numai în caz, dacă substanța din vas nu reacționează cu săpunul și nu formează compuși insolubili, greu de înlăturat, care sedimentează pe pereți. Soluția de spălat trebuie preventiv încălzită.

71. Înainte de prelucrarea veselei cu amestec sulfocromic, ea trebuie mai întâi spălată cu apă pentru a evita exploziile și împroșcarea. La spălarea pipetelor amestecul sulfocromic se introduce în ele cu ajutorul parei de cauciuc. În unele cazuri vesela poate fi spălată cu soluții concentrate de acizi și baze, care înlătură ușor impuritățile de grăsimi și substanțe rășinoase. În acest caz măsurile de protecție la spălarea veselei sunt aceleași ca și la lucrările cu acizi și baze.

72. Vesela deja spălată trebuie clătită cu o cantitate mare de apă, deoarece soluțiile de spălat pot forma cu impuritățile diferiți compuși persistenți.

73. Pentru a evita arsurile degetelor mâinilor, vesela de laborator ce conține substanțe corosive se spală folosind mănuși de cauciuc.

74. Substanțele toxice, foarte eficace, explozibile și ușor inflamabile trebuie aduse din depozit în încăperea de lucru în cantități strict necesare pentru lucrul curent în timpul zilei. La locul de lucru se permite de a avea substanțe ușor inflamabile în cantități, necesare pentru operația efectuată la momentul actual. Se interzice categoric păstrarea substanțelor explozibile, ușor inflamabile împreună cu acizi și baze.

75. Soluțiile inflamabile utilizate se acumulează într-un ambalaj special care se închide ermetic și se transmite pentru regenerare sau nimicire. Se interzice vărsarea acestor substanțe în sistemul de canalizare. Acizii și bazele utilizate trebuie acumulate aparte în vase special predestinate. Se permite de a vărsa în chiuvetă substanțe corosive în cantități mici numai după diluarea lor puternică cu apă.

76. Vărsarea resturilor de substanțe care răspândesc miros înțepător, neplăcut se va face întotdeauna sub nișa de ventilație pentru ce trebuie de prevăzut amplasarea în nișă a unei chiuvete și a unui robinet cu apă.

77. Responsabilitatea pentru păstrarea și evidența substanțelor toxice, ușor inflamabile, explozibile se pune pe seama șefului LDC prin ordinul directorului instituției medico-sanitare.

V. Măsurile în caz de accidente de muncă

78. În cazul accidentelor de muncă, leziuni, combustii, sau intoxicații, accidentatul (sau martorul accidentului) este obligat să anunțe imediat conducerea LDC.

79. Accidentatului i se acordă primul ajutor medical și după necesitate se trimite în instituția curativă de profil.

80. Personalul trebuie să fie instruit și să poată acorda primul ajutor medical în cazul accidentelor de muncă. Trusa de prim-ajutor trebuie să conțină toate medicamentele și rechizitele, necesare pentru acordarea primului ajutor medical.

REGULILE TEHNICII DE SECURITATE LA EXPLOATAREA TEHNICII MEDICALE ÎN INSTITUȚIILE MEDICO-SANITARE

I. Domeniul extinderii și ordinea aplicării acestor reguli.

1. Regulile prezente se extind asupra personalului antrenat la exploatarea tehnicii medicale. Regulile conțin indicațiile generale privind exploatarea inofensivă a articolelor de tehnică medicală în instituțiile medico-sanitare.

2. Respectarea cerinţele acestor Reguli sunt obligatorii. Orice abateri de la ele sunt interzise.
3. În practica medicală pot fi folosite numai articolele care corespund cerinţelor standardelor, condiţiilor tehnice, altor documente normative, aprobate în ordinea stabilită.

II. Cerinţele faţă de personalul antrenat la exploatarea tehnicii medicale.

4. Exploatarea de sine stătătoare a tehnicii medicale se permite numai personalului instruit şi atestat, apt după vârstă, starea sănătăţii şi calificare de a îndeplini lucrările încredinţate.
5. Pentru a fi admis la lucru personalul trebuie să treacă instructajul introductiv şi primar la locul de lucru pe tehnica securităţii cu indicarea procedeelor sigure şi raţionale de lucru şi înregistrarea în registrul pentru instructaj. După aceea, nu mai rar de o data în 6 luni se petrece instructajul repetat.
6. Conducătorii subdiviziunilor unde se exploatează tehnica medicală sunt obligaţi în baza acestor Reguli, a documentaţiei de exploatare a articolelor de tehnică medicală şi a condiţiilor concrete de muncă, să elaboreze instrucţiuni pe tehnica securităţii şi igiena muncii pentru fiecare sector de lucru. Aceste instrucţiuni trebuie coordonate cu inginerul pe tehnica securităţii şi igiena muncii şi aprobate de către conducerea instituţiei medico-sanitare şi comitetul sindical.
7. Conducătorii subdiviziunilor sunt obligaţi să controleze respectarea strictă de către personal a cerinţelor prevăzute de Regulile menţionate şi a instrucţiunilor privind tehnica securităţii şi igiena muncii.
8. Conducătorii subdiviziunilor poartă răspundere de organizarea exploatării corecte şi sigure a tehnicii medicale şi eficienţa folosirii ei.

III. Documentele de însoţire:

9. Setul de documente de însoţire trebuie păstrat în secţia unde se exploatează aparatul dat. Se interzice exploatarea aparatului fără documentele de însoţire.
10. Personalul trebuie să cunoască informaţia expusă în documentaţia de însoţire şi să se folosească de ea la exploatarea tehnicii medicale.

IV. Cerinţele securităţii la exploatarea aparatajului electric

11. Pentru prevenirea leziunilor provocate de curentul electric toate elementele metalice ale aparatelor electrice medicale trebuie să fie conectate la priza de pământ.
12. Se interzice de a conecta recipientul electric la reţeaua electrică în caz de defectare a ştecherului, prizei, izolaţiei cablului electric, de a folosi în lucru fire electrice cu izolaţia defectată, precum şi în caz de alte defecţiuni tehnice, de oarece există pericolul de electrocutare.
13. La repararea defecţiunilor, apărute în procesul exploatării aparatajului electric medical personalul trebuie imediat să deconecteze aparatul defectat, să înregistreze acest fapt în registrul deservirii tehnice şi să informeze şeful subdiviziunii. Exploatarea acestui aparat poate fi efectuată numai după înlăturarea defecţiunii tehnice menţionate şi a prezenţei în registrul deservirii tehnice a notei corespunzătoare a specialistului electrician.
14. Se interzice de a smulge din priză ştecherul (fişa de curent) folosind firul electric; efortul trebuie aplicat la corpul ştecherului.
15. Se interzice de a înlătura defectele aparatului, dacă acesta este conectat la reţeaua electrică.
16. Se interzice categoric a folosi în instituţiile medicale plite electrice cu încălzitoare deschise (îndeosebi cu spirală), calorifere electrice fără grilaj de protecţie, precum şi alţi recipienţi, a căror elemente (piese) se află sub tensiune şi există pericolul de electrocutare.

V. Cerinţele pentru asigurarea tehnicii antiincediare şi antiexplozibile

17. Încăperile laboratoarelor fac parte din localurile cu risc major de accidente - explozii şi incendii, de aceea activitatea personalului trebuie să se supună cerinţelor tehnicii antiincendiare şi antiexplozibile.

Reieşind din aceste considerente, se permite de a păstra la locul de muncă substanțe uşor inflamabile în cantități necesare pentru îndeplinirea anumitor operații de lucru la momentul actual.

18. Vasele cu pereții groşi cu substanțe uşor inflamabile şi explozibile trebuie păstrate în lăzi speciale sau case de fier, căptuşite cu azbest.

19. Se interzice păstrarea în aceeaşi încăpere a substanțelor uşor inflamabile şi uşor explozibile împreună cu acizii şi bazele.

20. Resturile utilizate ale substanțelor inflamabile se acumulează într-un ambalaj special care se închide ermetic şi se transmite pentru regenerare sau nimicire. Se interzice vărsarea acestor substanțe în sistemul de canalizare.

21. Responsabilitatea pentru păstrarea şi evidența substanțelor uşor explozibile şi inflamabile se pune pe sama şefului LDC în conformitate cu ordinul conducătorului instituției medico-sanitare.

22. Vasele, în care sau efectuat lucrări cu substanțele uşor inflamabile şi explozibile, trebuiesc spălate imediat după terminarea lucrului.

În caz de incendiu personalul laboratorului trebuie imediat să ia măsurile necesare pentru lichidarea lui şi paralel să informeze administrația instituției.

VI. Eliberarea accidentatului de la acțiunea curentului electric

Gravitatea leziunii depinde de durata contactării accidentatului cu curentul electric, de aceea este foarte important de a întrerupe imediat acest contact şi de a-i acorda ajutor medical urgent.

În primul rând, este necesar de a deconecta cât mai repede aparatul electric, folosind cel mai apropiat întrerupător. Dacă deconectarea imediată a aparatului electric este imposibilă, atunci accidentatul trebuie eliberat de elementele conductoare de curent cu care el contactează. Totodată persoana care acordă ajutor trebuie să ia toate măsurile de protecție pentru ca ea însăşi să nu vină în contact cu elementele conductoare de curent sau cu corpul accidentatului.

In caz de contactare cu dispozitivele electrice cu tensiunea până la 1000 V accidentatul poate fi eliberat de la elementele conductoare de curent, apucându-l de haină, dacă ea este uscată şi se desprinde de la corp, de exemplu, de poalele sau gulerul vestonului, paltonului. Totodată se interzice de a se atinge de corpul accidentatului, încălțămintea şi hainele lui umede, sau de obiectele de metal, care contactează cu pământul.

Se recomandă de a lucra cu o mână, a doua ținând-o în buzunar sau la spate. Folosind un obiect din lemn (o scândură îngustă sau băț) se dă la o parte firul electric de pe accidentat, evitând contactarea firului cu mâna neprotejată a persoanei care acordă ajutor. În aşa caz este rezonabil de a izola mâinile, îmbrăcând mănuşi dielectrice sau învelindu-le cu un material de lînă uscat, de exemplu, cu fularul.

Personalul, antrenat în deservirea aparatajului electric medical, este dator să cunoască procedeele practice de eliberare a accidentatului de sub acțiunea curentului electric, precum şi metodele de respirație artificială şi masaj indirect al cordului.

Normativele privind încăperile laboratoarelor de diagnostic clinic şi cerințele igienice față de încăperi sunt expuse în tabelele 2.1, 2.2, 2.3.

Tabel 2.1

NORMATIVE PENTRU ÎNCĂPERILE LABORATOARELOR DE DIAGNOSTIC CLINIC

Denumirea încăperilor	Instituțiile medicale tip ambulator cu numărul de vizite pe zi pînă la						Notă
	100	250	500	750	1250	1500	
	Instituțiile medicale tip staționar cu numărul de paturi						
	pînă la 100	101-200	201-400	401-600	601-800	801-1000	
	Suprafață încăperilor în m²						
A. Încăpere pentru colectarea, recepționarea și înregistrarea analizelor							
1. Încăpere pentru recepționarea, înregistrarea preliminară și repartizarea analizelor după metode	4	6	8+6	8+6	8+8	10+10	
2. Încăpere pentru colectarea probelor de sânge	9	9	12	16	16	16	
3. Încăpere pentru înregistrarea (computer) și eliberarea rezultatelor analizelor	-	-	5	5	10	10	
B. Încăpere pentru efectuarea analizelor							
Secția cercetări clinice, hematologice și citologice							
4. Încăpere pentru analiza urinei	10	16	16	16	20	20	
5. Încăpere pentru analiza materiilor fecale, sputei, sucurilor digestive	-	-	10	10	16	16	
6. Încăperi pentru cercetări hematologice	8	10	12	18	24	28	
7. Încăperi pentru cercetări citologice	-	-	-	12	12	12	
8.Încăperi pentru microscopiere	-	-	10	14	14	18	
9. Încăperi pentru colorarea frotiurilor	-	-	-	8	8	10	
10.Spălătorie	-	-	-	8+8	8+8	8+8	
Secția cercetări biochimice și imunologice							
11. Încăpere pentru cercetări biochimice	-	10	10	16	18	18	
12. Încăpere pentru cercetări hormonale	-	-	-	18	18	20	
13. Încăpere pentru cercetări imunologice	-	-	8	12	16	16	
14. Încăpere pentru cercetări hemostaziologice	-	-	-	12	16	16	
15.Spălătorie	-	-	-	8+8	8+8	8+8	
Secția cercetări bacteriologice							
16.Încăpere pentru recepționarea și înregistrarea analizelor	-	-	6	6	8	8	
17Încăpere pentru investigații sanitaro-bacteriologice	-	-	10×2	10×2	10×2	10×2	
18.Încăpere boxată cu preboxă	-	-	8	8	8×2	8×2	
19.Încăpere pentru investigarea hepatitelor virale	-	-	12	12	12	12	
20.Încăperi pentru investigații serologice	-	-	18	18	18	18	
21. Încăpere pentru termostate	-	-	-	2	4	4	
22. Sală pentru autoclave	-	-	10×2	10×2	10×2	10×2	
23. Spălătorie	-	-	10+8	10+8	10+8	10+8	
24. Sală pentru pregătirea, ambalarea și sterilizarea veselei	-	-	-	-	6	8	

25. Încăpere cu boxe pentru pregătirea şi turnarea mediilor de cultură	-		8	8	9	9	
26. Încăpere pentru păstrarea mediilor	-	-	4	4	6	6	
27.Încăpere pentru medicul microbiolog	-	-	-	-	8	8	
28.Încăpere pentru personal	-	-	4	4	8	8	
29.Sală de duş pentru personal	-	-	3	3	3	3	
C. Încăperi comune şi auxiliare							
30.Încăpere pentru centrifugare	6	8	8	12	16	16	
31.Spălătorie	6+6	8+6	8+6	-	-	-	
32.Încăpere pentru balanţe	-	-	4	4	4	6	
33.Încăpere pentru distilarea apei	-	-	6	6	8	8	
34.Încăpere pentru păstrarea materialelor şi consumabilelor (tehnică, piese de schimb, blanchete, ş.a.)	8	10	10	12	16	16	
35.Depozit pentru reagenţi (toxici, inflamabili, explozibili, acizi, baze)	-	-	4+4	4+4	6+6	8+8	
36.Încăpere pentru pregătirea reactivilor	-	-	-	10	10	10	
37.Încăpere pentru controlul calităţii	-	-	-	10	10	10	
38.Biroul şefului	-	-	10	10	10	10	
39.Încăpere pentru personal*	0,55×	0,55×	0,55×	0,55×	0,55×	0,55×	
40.Sală de duş pentru personal	-	-	3	3	3	3	
41.Încăperi pentru păstrarea echipamentului de protecţie şi obiectelor folosite la curăţenie	-	6	6	6	8	10	
42.WC pentru personal	3	3	3	3	3	3	

***** ***Notă:***

1. Numărul de analize pe zi este stabilit: pentru staţionare nu mai puţin de 0,5 analize pentru un pat; pentru secţia policlinică nu mai puţin de 0,2 analize la fiecare vizită a cabinetului medicului.
2. În laboratorul, care efectuează până la 550 analize pe zi, încăperea indicată în p.4 a tabelei menţionate mai sus se foloseşte şi pentru examinările menţionate în p. 5.
3. În laboratoarele, care efectuează până la 550 analize pe zi, spălătoria indicată în poziţia 10 se foloseşte şi pentru spălătoria secţiei biochimie (poziţia 15).
4. Numărul de laboranţi în fiecare încăpere nu trebuie să fie mai mare de 4.

Tabel 2.2

TEMPERATURA AERULUI CALCULATĂ ŞI NORMELE SCHIMBULUI DE AER ÎN ÎNCĂPERILE LABORATOARELOR DE DIAGNOSTIC CLINIC

Denumirea încăperilor	Temperatura internă calculată, °C	Multiplitatea şi debitul aerului în oră	
		La aflux	La aspiraţie
Încăperea pentru recepţionarea analizelor	18	+1,0	-3,0
Încăperea pentru înregistrarea şi eliberarea rezultatelor analizelor	18	-	-1,0
Camera cu autoclav şi pentru pregătirea mediilor	18	+1,0	-3,0
Încăperea pentru centrifugarea materialului biologic	18	+1,0	-3,0
Încăpere pentru cercetări	18	+1,0	-3,0
Spălătorie	18	+3,0	-4,0
Încăperea pentru personal	20	+1,0	-1,0

Încăpere pentru echipamentul de protecție și obiectele folosite la curățenie	16	-	-5,0
Încăpere pentru materiale și consumabile	16	-	-1,0
Baie	25	+3,0	-5,0
WC	20	-	50 m^3/h la un scaun și 25 m^3/h la un pisuar

Tabel 2.3

ILUMINAREA MINIM ADMISIBILĂ A ÎNCĂPERILOR DIN LABORATOARELE DE DIAGNOSTIC CLINIC

Denumirea încăperilor	Tipul lămpilor		Suprafața pentru care sunt indicate normele
	Luminiscente	Incandescente	
1. Cabinetul medicilor de laborator	2000	100	0,8m de la podea
2. Încăperile pentru autoclavare, distilare, așteptare	150	50	- // -
3. Laboratoarele	300	150	- // -
4. Spălătoriile laboratoarelor	100	50	la podea
5. Antreul, garderoba	75	30	- // -
6. Coridoare și treceri principale	70	30	- // -
7. Alte coridoare	50	10	- // -
8. Încăperile sanitare	75	30	- // -

3.2 Instrucțiuni privind regimul antiepidemic

I Dispoziții generale

Situația epidemică nefavorabilă, influențată de o tendință de creștere a morbidității prin hepatitele virale, maladiei HIV/SIDA, determină respectarea indispensabilă a condițiilor regimului antiepidemic în laboratoarele de diagnostic clinic (LDC). Respectarea riguroasă a regimului antiepidemic în LDC, indiferent de forma de organizare, prevede evitarea contaminării personalului medical, asigurarea securității în timpul manipulărilor medicale și excluderea răspândirii agenților patogeni în mediul ambiant.

Orice material biologic destinat investigării (sângele și derivatele lui – plasma, serul sanguin, lichidele cefalorahidian, pleural, exudat, sperma, secreții vaginale, sputa, urina, materiile fecale, etc) trebuie considerat ca material potențial contaminat.

Responsabilitatea pentru organizarea și respectarea regimului antiepidemic în timpul recoltării, cercetării și decontaminării materialului biologic revine conducătorului instituției, conducătorului LDC și persoanei antrenate nemijlocit în lucrările laboratorului. Instructajul cu privire la respectarea regimului antiepidemic al personalului laboratorului îl efectuează șeful de laborator: inițial – la încadrarea în câmpul de muncă și cel curent – o dată în 6 luni. La necesitate (unele încălcări, pregătirea nesatisfăcătoare a personalului), se efectuează instructajul extraordinar. Informația privind instruirea se fixează în registru.

II. Cerințele de amenajare, tehnica de securitate, igiena muncii și igiena personală în laboratoarele din instituțiile medico-sanitare

1. Pentru a ordona activitatea laboratorului conform profilului prescris acesta trebuie să dispună de un anumit număr de încăperi, care se vor diviza în: zona "curată", zona "de lucru" și depozit pentru reactivi. Zona "curată" va include încăperile pentru personalul laboratorului (alimentarea, schimbul

vestimentației), oficiul șefului. Zona "de lucru", în dependență de capacitatea laboratorului, va include încăperi destinate: recoltării și recepționării materialului biologic, încăperi în care se va efectua pregătirea preliminară a probelor și investigarea nemijlocită (centrifugarea, măsurări, microscopie, cântărire, înregistrare), încăpere pentru dezinfectarea materialului cercetat, spălarea și prelucrarea articolelor medicale.

2. Laboratorul trebuie să fie conectat la conductele de gaze, asigurat cu apeduct, canalizare, electricitate, încălzire centrală și apă caldă. Încăperile laboratorului trebuie înzestrate cu aparataj pentru ventilare prin aspirație și exhaustoare care nu provoacă zgomot, nu deranjează personalul în lucru. Ventilația în încăperile laboratorului trebuie pusă în funcțiune înainte de începerea lucrului.

3. Încăperile de examinare a urinei și materiilor fecale, precum și sălile de cercetări biochimice, serologice și hormonale se dotează cu dulapuri de aspirare (evacuare), care pot fi puse în funcție mecanic.

4. În laborator trebuie să existe chiuvete, lavoare separate pentru spălarea mâinilor personalului și pentru spălarea veselei și inventarului medical, toaletele pentru personal și pentru pacienți (separate).

5. Temperatura aerului și umiditatea relativă în încăperile laboratorului trebuie să corespundă normelor sanitare. Ferestrele din încăperile laboratorului trebuie să dispună de mânere care pot fi deschise ușor (în afară de boxele speciale ale laboratorului bacteriologic). În timp de vară la ferestre trebuie instalate plase pentru a nu permite pătrunderea insectelor în încăperi.

6. Toate încăperile laboratorului trebuie să fie asigurate cu iluminare naturală și artificială care se conformă rigorilor prevăzute de igiena muncii. Pentru preîntâmpinarea surmenajului la microscopie și exploatarea diverselor aparate optice se asigură iluminarea satisfăcătoare a câmpului de vedere, nu se va închide ochiul cu care nu se lucrează, după fiecare 30-45 min schimbând ochiul examinator.

7. Pereții din încăperile laboratorului trebuie să fie acoperiți cu teracotă până la înălțimea de 1,6 m sau cu vopsea de ulei în culori deschise.

8. Mesele de lucru trebuie să fie acoperite cu materiale rezistente la umezeală, acizi, baze, ignifuge și care pot fi prelucrate cu apă fierbinte și soluții dezinfectante.

9. Încăperile laboratorului trebuie să fie repartizate consecutiv procesului de efectuare a investigațiilor și să fie amenajate rațional în conformitate cu fluxul tehnologic.

10. Încăperile pentru recepționarea probelor se amplasează la intrarea în laborator. Înregistrarea rezultatelor, lucrul cu documentația se va efectua în încăperi sau locuri special separate de lucrările de investigare. Pentru instituțiile medicale de tip staționar în secții se vor echipa locuri de lucru special destinate colectării sângelui periferic.

11. Încăperile destinate dezinfectării materialului biologic, prelucrarea, spălarea veselei, sterilizarea articolelor medicale (în cazul când în instituția medicală procesul de sterilizare nu este centralizat) vor fi grupate într-un ansamblu unitar.

12. Pentru laboratoare în care se lucrează cu agenții bolilor contagioase:

12.1 Încăperile în care se lucrează trebuie să fie amplasate într-o clădire aparte sau într-o parte izolată a clădirii și să aibă nu mai puțin de 2 intrări ("curată" și "murdară").

12.2. Registratura și încăperea pentru recepționarea probelor trebuie să se găsească la intrarea în laborator; încăperile de recoltare și de lucru la sectorul infecțiile intestinale trebuie amplasate alături de încăperea pentru recepționarea probelor. Autoclavele, spălătoriile, preparatoarele și încăperile de pregătire a mediilor vor fi grupate într-un singur nod.

12.3. Boxa se va compune din două secțiuni: boxa propriu zisă și antiboxa, divizate între ele cu un perete de sticlă. Antiboxa servește pentru îmbrăcarea echipamentului special și efectuarea unor procese auxiliare.

12.4. Exploatarea autoclavelor, necesită îndeplinirea următoarelor cerințe:

a) persoana care lucrează cu autoclava trebuie să aibă legitimație specială ce-i permite să lucreze cu autoclava;

b) a preda sub semnătura persoanei, ce lucrează cu autoclava casoletele plombate și vesela cu material infectat. Se interzice deschiderea casoletelor ce conțin material infectat până la dezinfectarea lor completă.

13. La exploatarea utilajului auxiliar se respectă următoarele reguli:

a) Termostatele şi camerele cu termostatare se dezinfectează nu mai rar de o dată în lună şi după indicaţii epidemiologice.

b) Dezgheţarea refrigeratorului, prevăzută de regulile exploatării se face concomitent cu dezinfecţia lui.

c) Exploatarea centrifugilor se efectuează în strictă conformitate cu cerinţele de lucru expuse în fişele tehnice elaborate de firma producătoare sub supravegherea personalului special pregătit.

14. În scopul asigurării securităţii antiincendiare încăperile laboratorului trebuie să fie dotate cu mijloace antiincendiare (stingător de foc, plapume).

15. Toate locurile de lucru din laborator se vor dota cu instrucţiuni privind regimul antiepidemic corespunzător lucrărilor prevăzute.

III. Principiile de bază în organizarea regimului antiepidemic în activitatea LDC

1. Personalul LDC va lucra în echipament special: halate medicale, costume, bonete, încălţăminte de lucru, mănuşi de cauciuc. În caz de pericol de contaminare cu sânge sau alt material biologic se vor folosi măşti de protecţie, ochelari şi şorţuri impermeabile. Schimbul echipamentului (halate, costume, bonete) se efectuează cel puţin de 2 ori în săptămână. Spălarea echipamentului sanitar la domiciliu este strict interzisă.

2. Lucrările de recoltare, investigare, dezinfectare, spălare se vor efectua în mănuşi de cauciuc. Demontarea, spălarea, clătirea instrumentarului de laborator şi veselei se va efectua doar după dezinfecţia lui preventivă.

3. Saloanele în care se lucrează cu materiale biologice se dotează cu trusă farmaceutică de prim ajutor medical care include: tampoane de vată şi tifon sterile, soluţii: alcoolică de iod de 5%, alcool de 70%, peroxid de hidrogen de 6%; protargol de 1%; acid boric de 1%, permanganat de potasiu de 0,05%, leucoplast, degetar, seringă şi mănuşi sterile, mască şi echipament sanitar de rezervă.

4. În cazul leziunii mâinilor: în primul rând se şterg mănuşile cu un tampon înmuiat în soluţii de: cloramina 3% sau peroxid de hidrogen de 6%, după care se eliberează de ele. Se scurg primele picături de sânge, apoi se prelucrează mâinile timp de 2 minute cu tampon înmuiat abundent cu alcool de 70%, se spală cu săpun sub jet de apă, se şterg cu un tampon de unică folosinţă. Leziunile se vor prelucra cu soluţie alcoolică de iod 5%, se vor acoperi cu leucoplast sau degetar.

5. Dacă se suspectă poluarea mucoaselor cu sânge, acestea se spală imediat sub jet de apă, se prelucrează cu protargol de 1%, cavitatea bucală şi gâtul se clătesc cu alcool 70%, sau cu soluţie de acid boric 1%, sau permanganat de potasiu de 0,05%.

6. În caz de accidente la locurile de lucru:

- când accidentul s-a produs în timpul procesului de centrifugare măsurile de dezinfecţie se încep nu mai devreme de 30-40 min., adică după aşezarea aerosolului;
- accidental s-a murdărit cu materiale biologice mobila, inventarul, utilajele, acestea urmează imediat să fie şterse dublu cu o cârpă, cu tampoane de tifon sau vată înmuiate abundent în soluţie dezinfectantă;
- în cazul poluării echipamentului de protecţie, acestea se dezinfectează imediat prin afundarea în soluţiile de dezinfectare;
- toate cazurile de accidente şi măsurile luate în legătură cu aceasta trebuie neapărat înregistrate în registru LCD pe tehnica securităţii.

7. La locul de muncă se interzice consumul şi păstrarea alimentelor, fumatul şi machierea.

8. Se interzice pipetarea sângelui sau altor materiale biologice, reactivilor şi diverselor substanţe cu gura, se utilizează doar pipete automate, în lipsa acestora se pot folosi pare de cauciuc.

IV. Metodele de recoltare, transportare şi păstrare a materialului biologic.

Recoltarea materialelor biologice destinate cercetărilor de laborator se efectuează utilizând containere de unică folosinţă şi instrumentar de laborator steril de unică folosinţă pentru prelevarea nemijlocită a probelor de sânge.

1. Recoltarea probelor se efectuează doar în echipament de protecție, respectând regulile de aseptie. Pentru recepționarea probelor se vor amenaja separat saloane sau mese de lucru dotate cu echipament necesar pentru recoltare, vase pentru articolele medicale utilizate, soluție dezinfectantă pentru prelucrarea meselor după finisarea lucrărilor (sau în caz de accidente).

2. Pentru recoltarea sângelui periferic se va echipa o trusă divizată în două despărțituri. În una "curată" se vor păstra articolele sterile (tampoane de vată, capilare, pipete, lancete, pensete) și cele ce nu contactează cu sângele (citrat de sodiu, alcool etilic de 70°, soluție fiziologică, lame și lamele curate, cronometru, hârtie de filtru, formulare, mănuși curate). Cealaltă despărțitură "murdară" sau "contaminată" se va echipa cu vase destinate păstrării instrumentelor, tampoanelor, lamelelor, pipetelor și mănușilor deja aplicate la recoltare. Pentru acordarea primului ajutor medical în caz de accident trusa se va completa suplimentar cu: soluție alcoolică de iod 5%, peroxid de hidrogen de 6%, leucoplast, degetar, mănuși de rezervă.

3. Pentru fiecare pacient recoltarea sângelui începe cu prelucrarea mănușilor persoanei ce colectează cu 5 ml alcool etilic de 70°. Înainte de a înțepa, pielea degetului se prelucrează cu un tampon steril (glob de tifon) umectat cu 2 ml alcool etilic de 70°, se șterge cu un alt tampon steril uscat, se colectează probele, după care rana se acoperă cu alt tampon steril, de asemenea umectat în 2 ml alcool etilic de 70°. Scarificatoarele sterile se preiau din cutie sau ambalaj numai cu ajutorul pensetei. Penseta zilnic se sterilizează, iar pe parcursul recoltării probelor se păstrează în soluție de peroxid de hidrogen de 3%.

4. Tampoanele sterile se păstrează în pachete de hârtie (conform STAS 42-21-2-85) câte 10 bucăți. Instrumentele de laborator sterile (scarificatore, capilare, pipete) se păstrează în ambalajele unde au fost sterilizate. Termenul de păstrare a sterilității e indicat în tabelele 3, 4.

Se recomandă câteva variante de recoltare a probelor pentru cercetări hematologice:

Din deget poate fi recoltat pînă la 300 mkl sînge. Recoltarea sângelui capilar prin puncția pielii este preferabil utilizat în pediatrie și la adulți pentru determinări de : glucoză (inclusiv testul de toleranță la glucoză), lactat. Sîngele obținut prin puncția pielii este un amestec de : sânge din arteriole, sânge din venule, sânge capilar, lichid interstițial, lichid intra-celular.

După înțeparea degetului cu un scarificator steril de unică folosință se utilizează una din variantele expuse (I-III):

I variantă. Câteva picături de sânge (cel puțin 3-4) se plasează pe o lamă individuală sterilă. Pe lamă sângele se amestecă, apoi se face pipetarea în eprubete.

II variantă. Sângele se colectează nemijlocit de pe suprafață pielii degetului în capilare sterile de unică folosință sau în capilare Pancenko sterile, în prealabil inmuiate în soluție de citrat de sodiu sterilă (raport sânge citrat 4 : 1).

III variantă. Recoltarea se efectuează în "vacutainere" de unică folosință cu soluție de 7,5% Na_2EDTA.

IV variantă. Recoltarea sîngelui venos pentru cercetări hematologice. Se utilizează eprubete cu anticoagulant (K_2EDTA, K_3EDTA – 15%, Na_2EDTA – 7,5%). În eprubetă se colectează pînă la 2 – 3 ml, se amestecă atent și minuțios. Pipetarea sângelui în eprubete cu reactivi se va efectua ulterior în laborator.

5. Toate tampoanele, scarificatoarele, acele, pipetele, lamelele folosite în recoltarea probelor se afundă în soluție dezinfectantă.

6. Materialul biologic colectat in eprubete sau sticle se închid cu dopuri și se transportă în laborator în containere închise. Containerele după folosire se supun dezinfectării.

7. Documentația de însoțire se ambalează în pachete de polietilenă pentru a exclude posibilitatea contaminării cu material biologic. Se interzice plasarea formularelor de însoțire în eprubete, sticle sau flacoanele cu material biologic.

8. La deschiderea dopurilor la sticle, flacoane, eprubete sau alte vase cu material biologic trebuie să se evite vărsarea și stropirea.

9. La păstrarea materialului biologic în frigider e necesar ca acestea să fie plasate în pachete de polietilenă. În caz de contaminare a frigiderului cu biomaterial acesta se dezgheață și se dezinfectează concomitent.

V. Dezinfectarea instrumentarului de laborator, materialului biologic, veselei, echipamentului și utilajului

Toate instrumentele de laborator (camerele de numărat, cuvele, pipetele, canulele, parele de cauciuc, flacoanele, lamele și altă veselă de laborator) și inventarul care a contactat cu materialul biologic după fiecare utilizare trebuie să se supună dezinfectării.

1. Laboratorul se va asigura sistematic cu volumul necesar de soluții dezinfectante, vase (marcate și dotate cu capac) pentru efectuarea dezinfectării și spălării în cantitate suficientă. Toate vasele folosite pentru dezinfecție se marchează respectiv (indicând denumirea soluției, concentrația, destinația, data preparării).

2. Toate resturile de material biologic cercetat și probele, ce conțin ser diluat fără adaos de acizi, baze se toarnă intr-un vas special destinat și se presoară cu dezinfectant uscat: clorură de var, hipoclorit de calciu termostabil, hipoclorit de calciu neutru în raport de 200 g la 1 litru biomaterial timp de 60 min. Se pot aplica dezinfectante noi: Septabic 0,1% - 60 min.; Septador 0,1% - 60 min.; Sanefect 2,0% - 60 min sau alte dezinfectante aprobate în ordinea stabilită. La înlăturarea cheagurilor e necesar în prealabil să se desprindă materialul cu o spatulă metalică, care mai apoi se dezinfectează. Apele reziduale pot fi dezinfectate și prin fierbere timp de 30 min. sau se presoară cu dezinfectant uscat în raport 1: 5 timp de 60 min.

3. Eprubetele, pipetele, vârfuri pentru pipetele automate, pensetele, capilarele, lamele, cuvele, camerele de numărat, vasele din sticlă sau material plastic se dezinfectează prin afundarea completă în următoarele soluții dezinfectante: peroxid de hidrogen de 6%; peroxid de hidrogen 6% completat cu un detergent sintetic de 0,5%; formalină de 4% - timp de 60 min, sau prin fierbere în soluție de bicarbonat de sodiu 2% timp de 15 min. Soluțiile dezinfectante se folosesc o singură dată. Pentru dezinfectarea articolelor ce conțin canale interioare soluțiile dezinfectante se instilează (în volum de 5-10 ml) în canal cu ajutorul parei de cauciuc pentru a înlătura rămășițele de sânge, ser etc., după care se afundă în alt vas, având grijă ca toate cavitățile instrumentului să se umple cu soluție dezinfectantă.

4. Scarificatoarele, acele, tampoanele, plăcile imunologice se dezinfectează prin afundarea lor în următoarele soluții dezinfectante: cloramină de 3%; clorură de var de 3%; peroxid de hidrogen 6%; peroxid de hidrogen 6% completat cu un detergent sintetic de 0,5%; formalină de 4%; hipoclorit de calciu neutru de 0,5%; sulfoclorantin de 0,5% - timp de 60 min, sau prin fierbere în soluție de bicarbonat de sodiu 2% timp de 15 min. Se pot folosi și alte soluții dezinfectante cu potențial dezinfectant similar, aprobat în ordinea stabilită. Soluțiile dezinfectante se folosesc o singură dată.

5. Fiecare lot de dezinfectante ce conțin clor, înainte de întrebuințare, la etapa inițială se va testa la conținutul de clor activ de persoana responsabilă în instituție, apoi repetat, dar nu mai rar de o dată pe lună.

6. Vesela și instrumentele de unică folosință (plăcile cu godeuri, scarificatoarele, acele, pipete, vârfurile pipetelor automate etc.) ce au contactat cu sângele sau alte lichide biologice ale pacientului examinat, după dezinfecție se spală sub jet de apă până la înlăturarea definitivă a dezinfectantului, se ambalează în saci de polietilenă și cutii cu pereții rezistenți la acțiunile mecanice care sunt marcate cu galben sau cu pictograma "pericol biologic". Sacii și cutiile marcate cu pictograma "pericol biologic" se predau persoanei responsabile de gestionarea deșeurilor rezultate din activitățile medicale.

7. Suprafețele utilajului de laborator se prelucrează periodic cu soluție peroxid de hidrogen de 3% cu detergent sintetic de 0,5% care conține compuși anticorozivi.

8. Blocurile cuvelor analizatoarelor, cuvele aparatajului de măsurare, eprubete din material plastic etc., se dezinfectează cu peroxid de hidrogen 6% și se spală sub jet de apă.

9. Uleiul de imersie de pe lamele cu frotiurile de sânge fixat și vopsit după microscopie se înlătură cu un tifon de vată. Lamele se supun dezinfecției și curățirii sau prin fierbere în soluție saponată timp de 15 min., sau cu una din metodele aplicate în instituție. După curățire se spală sub jet de apă și se usucă.

10. În caz de murdărire cu sânge sau alt material biologic a echipamentului de protecție, acesta se dezinfectează prin afundare în una din soluțiile de dezinfectare: a) soluție de cloramină 3%; b) soluție cloramină activată 0,5%; c) soluție sulfaclorantină 0,1% - timp de 120 min în raport 5 litri soluție la 1 kg echipament.

11. Cârpele folosite în lucru şi la dezinfectarea inventarului şi utilajului se introduc într-un vas special cu soluţie dezinfectantă (cloramină de 3%, clorură de var 3%, peroxid de hidrogen de 6% - timp de 60 min), care are marcajul respectiv "pentru dezinfecţia cârpelor întrebuinţate".

12. După finisarea lucrărilor mănuşile folosite, pare de cauciuc se dezinfectează prin afundare în soluţie de: cloramină de 3%, clorură de var 3%, peroxid de hidrogen de 6%, peroxid de hidrogen 6% completat cu detergent de 0,5% - timp de 60 min, sau prin fierbere timp de 30 min. Mâinile şi porţiunile de piele neprotejate se prelucrează cu soluţii de alcool etilic 70° sau sol. cloramină 1% - timp de 2 min, se spală cu apă şi săpun.

13. După finisarea lucrărilor suprafeţele meselor de lucru se dezinfectează prin aplicarea soluţiei de: cloramină de 3%, clorură de var de 3%, peroxid de hidrogen de 6%.

14. Regimul de dezinfecţie în instituţiile şi subdiviziunile medicale care deservesc bolnavii cu tuberculoză.

Sputa şi obiectele de lucru cu ea se dezinfectează după una din următoarele proceduri: a) fierbere în soluţie de 2% bicarbonat de sodiu timp de 15 min; b) cu soluţie clorură de var activată* 20,0 g/100,0 ml timp de 60 min; c) soluţie de cloramină 5% timp de 12 ore; d) soluţie de cloramină activată* 2,5% timp de 4 ore; e) soluţie de sulfaclorantină 2,5% timp de 6 ore; f) soluţie hipoclorit de calciu (sodiu, potasiu, litiu) 10,0 g/100,0 ml timp 60 min.

Vesela de laborator se va dezinfecta prin: a) fierbere în soluţie de 2% bicarbonat de sodiu timp 15 min; b) în soluţie clorură de var activată* 0,5% timp de 60 min; c) în soluţie de cloramină 5% timp de 4 ore; d) în soluţie cloramină activată* 0,5% timp de 60 min; e) în soluţie de sulfaclorantină 1% timp de 60 min; f) în soluţie hipoclorit de calciu (sodiu, potasiu, litiu) 1% timp de 60 min.

Notă: * - pentru obţinerea soluţiilor dezinfectante activate la 1,0 litru sol. dezinfectantă se adaugă 120,0 ml soluţie amoniac 10% sau 50,0 g săruri de amoniu: sulfat, clorit, nitrat.

15. În laboratoarele bacteriologice şi virusologice dezinfectarea materialului biologic cercetat se efectuează conform instrucţiunilor indicate în actele normative şi ordinele în vigoare.

16. La efectuarea dezinfecţiei instrumentarului de laborator, materialului biologic, veselei, echipamentului şi utilajului pot fi folosite şi alte soluţii dezinfectante înregistrate şi permise în Republica Moldova. Metodele lor de preparare şi aplicare se vor indica în instrucţiunile de însoţire.

VI. Întreţinerea sanitară a încăperilor

Toate încăperile, utilajul, inventarul se menţin în curăţenie absolută.

Dereticarea umedă a încăperilor se efectuează zilnic, iar la necesitate - mai des, cu ajutorul soluţiilor dezinfectante: cloramină 1% sau clorură de var 1%. Cârpele şi inventarul după utilizare se prelucrează în sol. de cloramină 3%, clorură de var 3%, peroxid de hidrogen 6% cu detergent 0,5% - timp de 60 min.

Odată pe săptămână în încăperile, unde se lucrează cu sânge nativ şi cu ser sanguin se efectuează curăţenia generală cu folosirea sol. de cloramină 3% sau clorură de var 3%. În timpul dereticării generale se spală minuţios pereţii, utilajul, mobila, podelele etc.

Toate lucrările ce ţin de pregătirea soluţiilor dezinfectante, repartizarea lor în vasele corespunzătoare, lucrărilor de prelucrare şi sterilizare, curăţenia generală se efectuează după un program prestabilit de şeful LDC.

VII. Prelucrarea presterilizatoare

După dezinfecţia instrumentarului de laborator ce a contactat cu plaga sau mucoasele persoanei examinate se supun înainte de sterilizare se supune curăţirii şi prelucrării, etapa de presterilizare, aplicând una din soluţiile indicate în tabelele 3.1, 3.2.

Verificarea calităţii procedurii de presterilizare a articolelor se va evalua după prezenţa urmelor de sânge prin aplicarea probei cu azoperam, benzidină sau amidopirină şi prezenţa reziduurilor alcaline ale substanţei de spălat prin aplicarea probei cu fenolftaleină.

Autocontrolul în LDC se efectuează zilnic. Se verifică cel puţin 1% din lotul de articole cu aceiaşi

denumire prelucrate concomitent, însă nu mai puţin de 3-5 unităţi.

În cazul în care probele de control la sânge sau la soluţia de spălat s-au dedus pozitivă, tot lotul de articole inspectat este supus unei prelucrări repetate până la negativarea testelor.

După dezinfecţie şi prelucrarea de presterilizare se efectuează sterilizarea, aplicând metodele indicate în tabelele 3.3, 3.4, 3.5.

VIII. Prepararea soluţiilor de spălat, regulile şi condiţiile de sterilizare sunt indicate în tabelele 3.1,3.4, 3.5

Tabelul 3.1

PREPARAREA SOLUŢIILOR PENTRU SPĂLAT

Componenţi	Proporţionarea componenţilor pentru 1 dm^3 de soluţie lavabilă	Utilizarea
1. Detergentul "Biolot"*,g. Apă curgătoare, ml (cm3)	3,0 997,0	La prelucrarea mecanică (sub jet de apă curgătoare)
2. Detergentul "Biolot"*,g. Apă curgătoare, ml (cm3)	5,0 995,0	La prelucrarea mecanică
3. Soluţie de peroxid de hidrogen 27,5%	17 ml + 978 ml H_2O	La prelucrarea mecanică (sub jet de apă curgătoare, cu folosirea ultrasunetului) şi prelucrarea manuală
30,0%	16 ml + 979 ml H_2O	
33,0%	15 ml + 980 ml H_2O	
3,0%	200 ml + 795 ml H_2O	
Cu detergent**, g	5,0	
4. Detergent** , g Apă curentă, ml (cm3)	5,0 995,0	La prelucrarea mecanică cu aplicarea ultrasunetului

Notă: *- Detergentul „Biolot" sau alţi detergenţi cu enzime şi potenţial lavabil similar, aprobaţi în ordinea stabilită; ** - detergentul "Progres", "Astra", "Lotos", "Lotos- automat" sau alt detergent sintetic cu potenţial lavabil similar, aprobat în ordinea stabilită. La utilizarea detergentului ce conţine 0,5% peroxid de hidrogen precum şi a detergentului sintetic de tipul "Lotos" şi "Lotos-automat" 0,5% se va adauga inhibitorul anticoroziv - 0,14% oleat de sodiu (1,4 g la 1 dm^3 de soluţie).

Tabelul 3.2

PRELUCRAREA PRESTERILIZATORIE (OPERAŢIE MANUALĂ)

Nr d/o	Procedura	Regimul				Utilajul folosit
		Temperatura °C		Timpul de expoziţie		
		Valoarea nominala	Abateri maxime	valoarea nominală	Abateri maxime	
I.	Afundarea completă a articolului în soluţie de spălat cu folosirea detergentului "Biolot" (tab3.1, p.1, 2)	40	±5	15,0	± 1,0	Bidon, cadă, lavabou
	Afundarea completă a articolului în soluţie de spălat cu folosirea detergenţilor * (tab.3.1,p.3)	50	±5	15,0	± 1,0	Acelaşi
	Spălarea fiecărui articol în soluţie de detergenţi cu folosirea periei sau tampoanelor din tifon	-	-	0,5	±0,1	Acelaşi

II.	Clătirea sub jet de apă cu folosirea detergentului "Biolot"	-	-	3,0	±0,1	Cadă, lavabou
	Clătirea sub jet de apă cu folosirea detergenților*	-	-	5,0	±0,1	Aceleași
	Clătirea sub jet de apă cu folosirea detergenților*	-	-	10,0	±0,1	Aceleași
III.	Clătirea cu apă distilată	-	-	0,5	±0,1	Bidon, lavabou
IV.	Uscarea cu aer fierbinte	85	±2	Până la dispariția umezelii	-	Dulap pentru uscare

Notă: 1. Temperatura soluției în procesul de spălare nu se menține constantă.

2. Soluția de peroxid de hidrogen cu detergenți sintetici, inclusiv "Lotos", "Lotos-automat" cu inhibitor anticoroziv poate fi folosită timp de 24 ore din momentul preparării, dacă culoarea soluției nu s-a schimbat.

Soluția cu parametrii stabili se poate reîncălzi de 6 ori, căci astfel concentrația de peroxid de hidrogen nu se reduce esențial.

Soluția de detergent "Biolot" sau alți detergenți cu enzime și potențial lavabil similar, folosită pentru lavaj manual și mecanic se consumă o singură dată deoarece fermentul din componența lui se distruge în procesul de spălare.

*- Detergenții "Progres", "Astra", "Lotos", "Lotos- automat" sau alți detergenți cu potențial lavabil similar, aprobați în ordinea stabilită.

Tabelul 3.3

REGIMUL ȘI CONDIȚIILE DE STERILIZARE CU AER

Regimul de sterilizare				Aplicarea	Condițiile de efectuare a sterilizării	Termenul de păstrare a sterilității	Utilajul folosit
Temperatura de lucru în camera de sterilizare, °C		Timpul de sterilizare, min.					
Valoarea nominală	Abat max.	Valoarea nominală	Abat max.				
180	±2	60	±5	Pentru articole de metal, sticlă, cauciuc, silicon	Se sterilizează articole uscate. Sterilizarea se efectuează în ambalaj de hârtie de sac rezistentă la umiditate, hârtie pentru ambalare la automate de tipul E, cu sau fără ambalaj în vase deschise.	Articolele sterilizate în hârtie pot fi păstrate 72 ore, articolele fără ambalaj trebuie folosite nemijlocit după sterilizare.	Sterilizator cu aer

2. Acele, lancetele pot fi sterilizate în eprubete conice câte 5-10 unități. Lancetele se așează cu vârful în jos, eprubeta se închide cu hârtie de ambalaj.

3. Eficiența sterilizării cu aer depinde de distribuirea uniformă a aerului fierbinte în camera de sterilizare. Dacă se utilizează sterilizatoare ce nu sunt dotate cu ventilator (tipul ȘS-200, ȘS-200M, ȘSS-80), densitatea încărcării nu trebuie să depășească 50% din suprafața polițelor.

4. Articolele trebuie așezate orizontal.

5. Se interzice așezarea aglomerată a articolelor de sterilizare.

6. Regimul de funcționare a sterilizatorului se verifică în fiecare zi cu un indicator chimic (acid

tartric, hidrochinonă, tiouree sau alți indicatori chimici se permit verificarea procesului de sterilizare cu aer), care se plasează pe fiecare policioară în 5 puncte: în centru, în stânga, în dreapta, lângă ușă și la peretele posterior.

Tabelul 3.4

STERILIZAREA CU ABURI

Presiunea aburului în camera de sterilizare kg/cm^2		Temperatura de lucru în camera de sterilizare, ^{0}C		Timpul de expunere, min		
				Dirijarea manuală și semiautomată timp de	Dirijarea automată	
Valoarea nominală	abaterea maximă	valoarea nominală	abaterea maximă		Valoarea nominală	Abaterea maximă
0,2 (2,0)	±0,02	132	±2,0	20 min	20 min	±2,0
0,10 (1,1)	(±0,2)	120	±2,0	45 min	45 min	±3,0
Aplicarea		Condițiile de efectuare		Termenul de păstrare a sterilității	Utilajul folosit	
Pentru articole din metal anticorosiv, sticlă, articole din materiale textile, cauciuc, latex, polimeri rezistenți la temperatură		Sterilizarea se efectuează în cutii fără filtru sau în cutii cu filtru, în ambalaj dublu din pânză rezistentă la umiditate sau în hârtie pentru ambalarea producției la automatele de tipul E		Articolele sterilizate în cutii fără filtru, în ambalaj dublu de bumbac sau pergament în hârtie de sac, etc. pot fi păstrate 72 ore în cutii de sterilizare cu filtru –20 zile	Sterilizator cu abur	

Notă: Regimul de funcționare a sterilizatorului se verifică cu indicatori chimici (D-manoza, nicotinamida, acid benzoic) care, fiind introduși în tuburi, se plasează în fiecare casoletă.

Tabelul 3.5

STERILIZAREA CU SOLUȚII CHIMICE

Agentul sterilizant	Regim de sterilizare				Materialul de sterilizat	Mod de prelucrare	Utilajul folosit
	Temperatura, ^{0}C		Timpul de expunere, min.				
	Valoarea nominala	Abaterea max	Valoarea nomina La	Abaterea max			
Peroxidul de hidrogen 6% (după conținutul de substanță activă)	18 50	- ±2	360 180	±5 ±5	Articole din materiale din polimeri, cauciuc, sticlă, metal anticorosiv	Sterilizarea se efectuează prin scufundarea completă a articolului în soluție pe timpul de expoziție, după care articolul se clătește cu apă sterilă de 2 ori. Termenul de păstrare a articolului sterilizat în ambalaj steril învelit cu tifon steril – 72 ore	Vesela din sticlă, material plastic sau cel emailat (fără defecte) închise
Soluția "Dezoxon" (după acidul peroxiacetic)	18	-	45	±5			
Aldehida glutarică 2,5% (după conținutul de substanță activă) pH 7,0 - 8,5	21	±1	360	±5			

CAPITOLUL 4

LISTA
INVESTIGAŢIILOR DE LABORATOR RECOMANDATE PENTRU LABORATOARELE DE DIAGNOSTIC CLINIC

Legendă: 1-10 - Instituţii medicale de diferit nivel.

Serviciul Asistenţă Medicală Primară: 1 – Oficiul Medicilor de Familie (1500 – 2000 lociutori). 2 – Centrul de Sănătate (mai mult de 2000 lociutori). 3 – Centrul Medicilor de Familie . **Serviciul Asistenţă specializată de ambulator:** 4 – Centrul Consultativ-Diagnostic (până la 80 mii locuitori). 5 – Centrul Consultativ-Diagnostic (mai mult de 80 mii locuitori).	**Serviciul spitalicesc** Spitale raionale: 6 – până la 80 mii locuitori; 7 - mai mult de 80 mii locuitori. Spitale municipale. 8 - până la 80 mii locuitori; 9 - mai mult de 80 mii locuitori. 10 – Instituţii republicane, Centre universitare.

№	Denumirea investigaţiilor	Instituţia în care se recomandă de efectuat cercetările
	1 Metode generale de laborator clinic	
	Examenul urinei	
1.	Proprietăţile fizice ale urinei: volumul, culoarea, transparenţa	1-10
2.	Densitatea specifică	1-10
3.	Determinarea pH-ului	1-10
4.	Identificarea glucozei (metoda calitativă)	1-10
5.	Determinarea glucozei (metoda cantitativă)	1-10
6.	Identificarea proteinelor (metoda calitativă)	1-10
7.	Determinarea proteinelor (metoda cantitativă)	1-10
8.	Identificarea proteinei Bens-Jones	4-10
9.	Identificarea corpilor cetonici	1-10
10.	Identificarea sângelui	1-10
11.	Identificarea bilirubinei (metoda calitativă)	1-10
12.	Identificarea corpilor urobilinici (expres-metoda)	1-10
13.	Microscopia sedimentului urinăr (epiteliu, eritrocite, leucocite, cilindri, etc.)	2-10
14.	Numărătoarea elementelor figurate ale sângelui (eritrocitelor, leucocitelor, cilindrilor)	2-10
15.	Proba Zimniţki	2-10
	Examenul secreţiei gastrice	
16.	Proprietăţile fizice (cantitatea, culoarea, mirosul, prezenţa mucozităţii, elementelor patologice	4-10
17.	Determinarea acidităţii totale, HCl liber, HCl legat prin metoda de titrare	4-10
18.	Determinarea pepsinei	4-10

19.	Examenul microscopic al sucului gastric (leucocite, eritrocite, celule epiteliale, microorganisme, rămăşiţe alimentare etc.)	4-10
	Examenul sucului duodenal	
20.	Proprietăţile fizice: cantitatea, culoarea, consistenţa, densitatea relativă, pH-ul, prezenţa mucozităţii, elementelor patologice	4-10
21.	Examenul microscopic (leucocite, eritrocite, celule epiteliale, cristale, protozoare lamblii, helminţi)	4-10
	Examenul lichidului cefalo-rahidian	
22.	Proprietăţile fizice: aspectul şi culoarea, transparenţa, densitatea relativă, formarea vălului de fibrină	4-10
23.	Identificarea proteinelor	4-10
24.	Determinarea proteinelor	4-10
25.	Determinarea glicorahiei	4-10
26.	Determinarea clorurilor	4-10
27.	Determinarea acidului lactic	4-10
28.	Determinarea numărului de elemente celulare (citozei) şi numărătoarea lor diferenţiată	4-10
	Examenul lichidelor patologice de puncţie (exudatelor şi transudatelor)	
29.	Proprietăţile fizice: volumul, caracterul, culoarea, transparenţa, densitatea relativă	4-10
30.	Identificarea proteinelor (metoda calitativă)	4-10
31.	Determinarea proteinelor (metoda cantitativă)	4-10
32.	Examenul microscopic (eritrocite, leucocite, celule mezoteliale, celule neoplastice, picături de lipide, druze de actinomicete)	4-10
	Examenul lichidelor sinoviale	
33.	Proprietăţile fizice: cantitatea, aspectul, transparenţa, densitatea relativă, prezenţa chiagului de mucină, viscozitatea	4-10
34.	Citoza	4-10
35.	Numărătoarea fagocitelor	4-10
36.	Citirea formulei leucocitare	4-10
	Examenul sputei	
37.	Proprietăţile fizice: cantitatea, culoarea, aspectul, consistenţa, mirosul, depunerea în straturi.	2-10
38.	Examenul microscopic (prezenţa fibrelor elastice, elementelor astmatice, eritrocite, leucocite, celule ale epiteliului cilindric, cristale, druze de actinomicete, levuri, elemente ale echinococului, celule neoplastice)	2-10
39.	Examenul sputei la Mycobacterium tuberculosis	2-10
40.	Identificarea hemosiderinei	2-10
	Examenul materiilor fecale	
41.	Proprietăţile fizice: aspectul, cantitatea, culoarea, consistenţa, mirosul, pH-ul	2-10
42.	Identificarea sângelui	2-10
43.	Identificarea bilirubinei, stercobilinei	2-10
44.	Identificarea substanţelor proteice	4-10
45.	Examenul microscopic (reziduuri alimentare, mucus, eritrocite, leucocite, epiteliu cilindric, cristale, etc.)	2-10
46.	Depistarea protozoarelor	4-10
47.	Depistarea ouălor de helminţi	2-10
48.	Depistarea larvelor de helminţi	2-10

49.	Determinarea chimotripsinei	7-10
	Examenul secrețiilor genitale și urogenitale	
50.	Examinarea la Trichomonas și gonococi	2-10
51.	Determinarea gradului de puritate a vaginului	4-10
52.	Determinarea profilului hormonal	4-10
53.	Cercetarea secretului prostatei	4-10
54.	Determinarea cantității, culorii, mirosului, viscozității, pH-ul ejaculatului	4-10
55.	Examenul microscopic al ejaculatului	4-10
56.	Determinarea mobilității spermatozoizilor	4-10
57.	Număratoarea spermatozoizilor	4-10
58.	Determinarea spermatozoizilor "vii" și "morți"	4-10
59.	Stimularea mobilității spermatozoizilor ("reanimarea" lor)	4-10
60.	Determinarea fructozei în ejaculat	4-10
	II. Explorări hematologice și citochimice	
1.	Determinarea hemoglobinei în sânge	1-10
2.	Determinarea hemoglobinei libere din plasma sângelui	4-10
3.	Determinarea fracțiilor hemoglobinei în sânge (A1, A2, F)	4-10
4.	Numărătoarea eritrocitelor	1-10
5.	Determinarea duratei vieții eritrocitelor	10
6.	Determinarea falciformității eritrocitelor	4-10
7.	Determinarea hematocritului	2-10
8.	Calcularea indicilor eritrocitari (concentrației medie de hemoglobină într-un eritrocit, conținutul mediu de hemoglobină într-un eritrocit, calcularea volumului mediu al eritrocitului)	4-10
9.	Determinarea diametrului eritrocitar în frotiul colorat	4-10
10.	Construirea curbei de distribuire a eritrocitelor după marimea diametrului (curba Price-Jones)	4-10
11.	Determinarea rezistentei osmotice a eritrocitelor	4-10
12.	Numărătoarea eritrocitelor cu granulație bazofilă	4-10
13.	Numărătoarea reticulocitelor	4-10
14.	Numărătoarea trombocitelor	2-10
15.	Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)	1-10
16.	Numărătoarea leucocitelor	1-10
17.	Caracteristica morfologică a leucocitelor în sângele periferic (formula leucocitară)	2-10
18.	Numărătoarea mielocariocitelor	10
19.	Numărătoarea megacariocitelor	10
20.	Citirea mielogramei și caracteristica hematopoezei medulare	10
21.	Numărătoarea siderocitelor și sideroblaștilor (în frotiurile sângelui periferic și măduvii osoase)	10
22.	Depistarea celulelor lupice (LE)	4-10
23.	Cercetarea sângelui la paraziții malariei	4-10
24.	Determinarea hemoglobinei fetale în lizatul eritrocitar	4-10
	Cercetări citochimice ale celulelor sanguine și ale măduvii osoase	
25.	Determinarea activității glucozo-6-fosfat dehidrogenazei în eritrocite:	10
26.	Determinarea activității fosfatazei alcaline: - în sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10

27.	Determinarea activității fosfatazei acide: - în sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10
28.	Determinarea activității ? -naftil-acetat esterazei: - în sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10
29.	Determinarea activității ? -naftil-AS-D-cloracetatesterazei: - în sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10
30.	Determinarea activității peroxidazei: - în sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10
31.	Determinarea activității succinatdehidrogenazei: - în sângele periferic	10
32.	Determinarea activității α-glicerofosfatdehidrogenazei: - în sângele periferic	10
33.	Determinarea lipidelor: -în sângele periferic	10
	-în frotiurile măduvei osoase	10
34.	Determinarea mucopolizaharidelor neutre: - in sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10
35.	Determinarea siderocitelor și sideroblaștilor: - in sângele periferic	10
	- în frotiurile măduvei osoase	10
36.	Determinarea viscozității sângelui	7-10
	III. Investigații citologice	
1.	Cercetarea punctatelor formațiunilor tumorale și infiltrațiilor de orice localizare:piele, glandă mamară, ficat, rinichi, plămâni, tumori retroperitoneale, tumori ale mediastinului, glandei tiroide, prostată, testicul, ovare, ganglioni limfatici, amigdale, țesuturi moi, oase	4-10
	Citologia exfoliativă	
2.	Cercetarea materialului recoltat în timpul examinării ginecologice	4-10
3.	Cercetarea transudatelor, exudatelor, secretelor, excretelor	4-10
4.	Cercetarea raclatelor și eliminărilor de pe suprafața eroziunilor, ulcerelor, rănilor și fistulelor	4-10
5.	Cercetările citologice la examinarea endoscopică a pacienților: cercetarea materialului căpătat prin laringoscopie, bronhoscopie, esofagoscopie, gastroscopie, duodenoscopie, laparoscopie, colonoscopie etcl.(amprente de pe bioptat, raclate, aspirație, punctate transbronșice etcl.)	4-10
	Examenul citochimic al frotiului	
6.	Identificarea glucozaminoglicanilor neutri etccizi	10
7.	Identificarea glicogenului	10
8.	Identificarea lipidelor	10
9.	Identificarea melaninei	10
10.	Activitatea fosfatazei acide în celule	10
11.	Activitatea fosfatazei alcaline în celule	10
12.	Activitatea peroxidazei în celule	10

13.	Identificarea hemosiderinei în celule	10
	IV. Explorări biochimice	
1.	Determinarea proteinelor totale în serul sanguin	2-10
2.	Determinarea albuminei în serul sanguin	4-10
3.	Determinarea fracțiunilor proteice în serul sanguin	4-10
4	Determinarea mioglobinei în serul sanguin	10
5.	Determinarea troponinelor I și M în serul sanguin	10
6.	Proba cu timol	2-10
7.	Proba cu sublimat corosiv	4-10
8.	Determinarea ureei în serul sanguin și urină	2-10
9.	Determinarea acidului uric în serul sanguin și urină	4-10
10.	Determinarea creatininei în serul sanguin și urină	2-10
11.	Determinarea glucozei în serul sanguin și urină	2-10
12.	Determinarea acizilor sialici în serul sanguin	4-10
13.	Determinarea seromucoizilor în serul sanguin	4-10
14.	Determinarea hemoglobinei glicozilate	5-10
15.	Determinarea beta-lipoproteinelor în serul sanguin	2-10
16.	Determinarea fracțiunilor lipoproteinelor în serul sanguin	4-10
17.	Determinarea colesterolului total în serul sanguin	2-10
18.	Determinarea fracțiunilor colesterolului în serul sanguin	4-10
19.	Determinarea colesterolului lipoproteidelor cu densitatea înaltă (α – colesterolul)	4-10
20.	Determinarea Apo-A în serul sanguin	10
21.	Determinarea Apo-B în serul sanguin	10
22.	Determinarea lipidelor totale în serul sanguin	4-10
23.	Determinarea trigliceridelor în serul sanguin	4-10
24.	Determinarea fosfolipidelor totale în serul sanguin	4-10
25.	Determinarea bilirubinei totale în ser etc fracțiunilor ei	2-10
26.	Determinarea porfirinelor în eritrocite, urină, fecalii	10
27.	Determinarea acidului delta-aminolevulinic în urină	10
28.	Determinarea calitativa a uroporfirinei și coproporfirinei în urină	10
29.	Determinarea moleculelor cu masa medie în serul sanguin	4-10
30.	Determinarea sodiului în serul sanguin, plasma sanguină, urină, eritrocite	4-10
31.	Determinarea potasiului în serul sanguin, plasma sanguină, urină, eritrocite	4-10
32.	Determinarea clorului în serul sanguin	4-10
33.	Determinarea calciului în serul sanguin și urină	4-10
34.	Determinarea calciului ionizat în sânge	4-10
35.	Determinarea magneziului în serul sanguin, plasma sanguină, urină	4-10
36.	Determinarea fosforului anogranic in serul sanguin și urină	4-10
37.	Determinarea fierului în serul sanguin	4-10
38.	Determinarea capacității serului sanguin de combinare cu fierul	4-10
39.	Determinarea feritinei în serul sanguin	10
40.	Determinarea transferinei în serul sanguin (plasma sanguină)	10
41.	Determinarea litiului în serul sanguin	10
42.	Determinarea cuprului în serul sanguin	10
43.	Determinarea ceruloplasminei în serul sanguin	4-10
44.	Determinarea acidului lactic în serul sanguin	10

45.	Determinarea acidului piruvic în serul sanguin	10
46.	Determinarea D-xilozei	10
47.	Determinarea mercurului în sânge, urină şi tesuturi	10
48.	Determinarea arseniului în sânge, urină şi tesuturi	10
49.	Determinarea plumbului în sânge, urină şi tesuturi	10
50.	Determinarea nitraţilor în ser şi urină	4-10
51.	Determinarea methemoglobinei în sânge	10
52.	Determinarea alcaloizilor în materialul biologic	10
53.	Determinarea somniferelor şi preparatelor sedative în materialul biologic	10
54.	Examenul concrementelor	10
	Cercetări ale enzimelor şi hormonilor	
55.	Determinarea activităţii α- amilazei în serul sanguin, plasma sanguină	2-10
	- în urină	2-10
	- în conţinutul duodenal	10
56.	Determinarea activităţii ALT în serul sanguin	2-10
57.	Determinarea activităţii AST în serul sanguin	2-10
58.	Determinarea activităţii gama-glutamiltranspeptidazei în serul sanguin	4-10
59.	Determinarea activităţii creatinkinazei şi izoenzimelor ei în serul sanguin	4-10
60.	Determinarea activităţii lactatdehidrogenazei în serul sanguin	4-10
61.	Determinarea izoenzimelor lactatdehidrogenazei în serul sanguin	9-10
62.	Determinarea activităţii lipazei în serul sanguin	4-10
63.	Determinarea activităţii fosfatazei acide etc fracţiunilor ei în serul sanguin	4-10
64.	Determinarea activităţii fosfatazei alcaline în serul sanguin	4-10
65.	Determinarea activităţii 5'-nucleotidazei în serul sanguin	4-10
66.	Determinarea activităţii leucinaminopeptidazei în serul sanguin	4-10
67.	Determinarea activităţii fructozo-1-fosfataldolazei în serul sanguin	4-10
68.	Determinarea activităţii glutamatdehidrogenazei în serul sanguin	10
69.	Determinarea activităţii alcooldehidrogenazei în serul sanguin	10
70.	Determinarea activităţii glucozo-6- fosfatdehidrogenazei în hemolizatul eritrocitelor	10
71.	Determinarea activităţii sorbitoldehidrogenazei în serul sanguin	10
72.	Determinarea activităţii catalazei în serul sanguin, eritrocite, urină	10
73.	Determinarea activităţii ceruloplasminei în serul sanguin	4-10
74.	Determinarea activităţii pseudocolinesterazei în serul sanguin	4-10
75.	Determinarea activităţii tripsinei în serul sanguin, în conţinutul duodenal	10
76.	Determinarea inhibitorului tripsinei în serul sanguin	10
77.	Determinarea activităţii lipoproteinlipazei în serul sanguin	10
78.	Determinarea activităţii alfa-glicozidazei în serul sanguin, urină, plasma spermei	10
79.	Determinarea hormonului adrenocorticotrop (ACTH) în serul sanguin	10
80.	Determinarea hormonului luteinizant (LH) în serul sanguin	10
81.	Determinarea hormonului foliculostimulant (FSH) în serul sanguin	10
82.	Determinarea tireotropinei (TTH) în serul sanguin	10
83.	Determinarea prolactinei în serul sanguin	10
84.	Determinarea estradiolului liber şi total	
	- în serul sanguin	10
	- în urină	10

85.	Determinarea testosteronului liber şi total - în serul sanguin	10
	- în urină	10
86.	Determinarea progesteronului în serul sanguin	10
87.	Determinarea gonadotropinei horionice în urină	10
88.	Determinarea tiroxinei libere (T_4) în serul sanguin	10
89.	Determinarea triiodtironinei libere (T_3) în serul sanguin	10
90.	Determinarea globulinei tiroxin-pexice în serul sanguin	10
91.	Determinarea tireoglobulinei în serul sanguin	10
92.	Determinarea calcitoninei în serul sanguin	10
93.	Determinarea hormonului paratiroid în serul sanguin	10
94.	Determinarea aldosteronului în serul sanguin, plasmă, urină	10
95.	Determinarea cortizolului în serul şi plasma sanguină, urină, lichidul amniotic	10
96.	Determinarea cortizolului liber în serul sanguin, plasmă, urină	10
97.	Determinarea 17-hidroxicorticosteroizilor în plasma sanguină, urină, lichidul amniotic	10
98.	Determinarea 10-dezoxicortizolului în serul sanguin, plasmă, urină	10
99.	Determinarea dehidroepiandrosteronului în urină	10
100.	Determinarea dehidroepiandrosteronsulfatului în serul sanguin	10
101.	Determinarea 17-cetosteroizilor în urină	10
102.	Determinarea progesteronului în salivă, serul şi plasma sanguină, urină, lichidul amniotic	10
103.	Determinarea estradiolului în plasma sanguină, urină	10
104.	Determinarea estronului în plasma sanguină, urină	10
105.	Determinarea estriolului în serul sanguin, urină, lichidul amniotic	10
106.	Determinarea 17-hidroxiprogesteronului în plasma sanguină, urină	10
107.	Determinarea gonadotropinei horionice în serul şi plasma sanguină, urină	10
108.	Determinarea lactogenului placentar în serul sanguin, lichidul amnioc	10
109.	Determinarea catecolaminelor etc precursorilor lor (DOPA, dopaminei, noradrenalinei etcdrenalinei) în serul şi plasma sanguină, urină, lacrimă, lichidul cefalorahidian, lichidul amniotic	10
110.	Determinarea acidului vanililmindalic în serul sanguin, urină	10
111.	Determinarea acidului homovanilinic în serul sanguin, urină, LCR	10
112.	Determinarea acidului 5-hidroxiindolil-acetic în serul sanguin, urină	10
113.	Determinarea serotoninei în serul sanguin, urină	10
114.	Determinarea histaminei în serul sanguin, urină	10
115.	Determinarea activităţii reninei în plasma sanguină	10
116.	Determinarea insulinei în serul sanguin	10
117.	Determinarea C-peptidului în serul sanguin	10
118.	Determinarea glucagonului în serul sanguin	10
119.	Determinarea gastrinei în serul sanguin	10
120.	Determinarea peptidului -natriu uretic în serul sanguin, urină	10
121.	Determinarea somatomedinei C în serul sanguin	10
122.	Determinarea somatomedinei A în serul sanguin	10
123.	Determinarea endorfinelor în plasma sanguină	10
124.	Determinarea encefalinelor în plasma sanguină	10

V. Cercetările coagulologice

1.	Timpul de sângerare	1-10
2.	Timpul de coagulare a sângelui nestabilizat	1-10
3.	Determinarea receptorilor trombocitelor IIb/IIIA, Ib	10
4.	Determinarea f.3 trombocitar după acceptibilitatea lui în plasma bogată și săracă în trombocite	10
5.	Determinarea f.4 trombocitar (antiheparinic)	10
6.	Determinarea trombosponinei în plasma sanguină	10
7.	Determinarea trombomodulinei în plasma sanguină	10
8.	Determinarea f. Wiellebrand	10
9	Retracția chiagului de sânge	4-10
10.	Determinarea capacității de adeziune (retenție) a trombocitelor	10
11.	Agregarea (agregația) spontană a trombocitelor	10
12.	Agregarea (agregația) trombocitelor în prezența agoniștilor: ADP, colagen, adrenalina, ristocetina (ristomicina), acid arahidonic, ionoforul de calciu, serotonina, trombina, factorul leucocitar de agregație (FAT)	10
13.	Timpul de recalcificare activat (TRA)	4-10
14.	Timpul de tromboplastină parțial activat (TTPA)	4-10
15.	Timpul de protrombină (de tromboplastină), indicele protrombinic, raportul protrombinic normalizat (RPN)	2-10
16.	Diagnosticul diferențial al deficitului f. VII, X, V sau II pe baza testelor cu coagulaza veninului de șarpe (lebetox, ehitox) și timpului de protrombină	10
17.	Diagnosticul diferențial al deficitului f. VIII, IX, XI pe baza TTPA	10
18.	Determinarea factorilor necarboxilați VII, X și II (PIVKA)	10
19.	Determinarea rezistenței f. Va către proteina C activată (anomalia f.V Leyden)	10
20.	Anomalia f. Va Leyden (analiza PCR)	10
21.	Anomalia f. II (analiza PCR)	10
22.	Determinarea f. XIII (factorul de stabilizare a fibrinei)	10
23.	Timpul de trombină	4-10
24.	Timpul de trombină cu sulfat de protamină	4-10
25.	Determinarea fibrinogenului în plasma sanguină	4-10
26.	Timpul de reptilază cu coagulaza veninului de botrox (botroxclotaza)	10
27.	Determinarea antitrombinei III	10
28.	Screening-ul tulburărilor în sistemul proteinelor C+S (Testul global – Parus-test)	10
29.	Determinarea inhibitorilor f. VIII sau IX	10
30.	Determinarea inhibitorului activității f. Xa în plasma sanguină	10
31.	Complexul de teste pentru determinarea anticoagulantului "lupic"	10
32.	Liza euglobulinică spontană	4-10
33.	Liza euglobulinică stimulată: - cu streptochinază;	7-10
34.	Liza euglobulinică stimulată: - cu f.XIIa-calikreină;	7-10
35.	Liza euglobulinică stimulată: - proba cu manșeta (până și după compresia dozată a extremităților)	7-10
36.	Determinarea plasminei, plasminogenului	10
37.	Determinarea complexelor solubile de monomeri ai fibrinei	4-10

38.	Produsele de degradare a fibrinogenului (fibrinei) - PDF	4-10
39.	Determinarea a_2- antiplasminei	10
40.	Determinarea antigenului activatorului tisular al plasminogenului (tPA)	10
41.	Determinarea inhibitorului activatorului plasminogenului 1 și 2 (PAI 1, PAI 2): - activitatea	10
	- antigenul	10
	VI. Metodele imunologice	
	Cercetările imunologice pentru diagnosticul maladiilor neinfecțioase și reacțiile imunității nespecifice	
1.	Determinarea imunoglobulinelor etc componentelor lor: Determinarea concentrației claselor principale și subclaselor de imunoglobuline (IgA, IgM, IgG)	4-10
2.	Determinarea catenelor grele și ușoare ale imunoglobulinelor	10
3.	Determinarea concentrației de imunoglobuline E totale	7-10
4.	Determinarea concentrației de imunoglobulină E specifică	10
5.	Determinarea concentrației de imunoglobulină D	10
6.	Determinarea anticorpilor către antigenii de origine vegetală, animală, chimică, medicamentoasă	10
	Indicii protecției naturale	
7.	Determinarea sistemului complement: C1 componentul (C1, C1q, C1r, C1s etc);	10
	- C2 componentul (C2r, C2b etc.);	10
	- C3 componentul (C3, C3 NCF, C3a etc.);	10
	- C4 componentul (C4, C4f etc.);	10
	- complexul care atacă membrana C5-C9.	10
8.	Determinarea factorilor de inițiere și control al mecanismului alternativ de activare a complementului: - factorul B;	10
	- factorul H;	10
	- properdina;	10
	- factorul I și D.	10
9.	Determinarea inhibitorilor sistemului complement	10
10.	Determinarea lizozimei	10
11.	Determinarea lactoferinei	10
	Determinarea anticorpilor către antigenii tisulari și componentele lor	
12.	Determinarea anticorpilor către antigenii glandei tiroide: - către tireoglobulină	10
	- către peroxidaza tiroidă	10
	- către fracția microsomală a tireocitelor	10
13.	Determinarea anticorpilor către antigenii insulițelor Langerhans	10
14.	Determinarea anticorpilor către mielină etclte structuri ale țesutului nervos	10
15.	Determinarea anticorpilor către antigenii glandelor salivare	5-10
16.	Determinarea anticorpilor către antigenii miocardului	5-10
17.	Determinarea anticorpilor către antigenii țesutului renal	5-10
18.	Determinarea anticorpilor către antigenii țesutului hepatic	5-10

19.	Determinarea anticorpilor către antigenii țesutului muscular	5-10
20.	Determinarea anticorpilor către colagen	10
21.	Determinarea anticorpilor către gliadină	10
22.	Determinarea anticorpilor către antigenii cristalinului	10
23.	Determinarea anticorpilor către antigenii stomacului	5-10
	Determinarea anticorpilor către celulele sanguine, țesutului conjunctiv, secretelor	
24.	Determinarea anticorpilor antilimfocitari	10
25.	Determinarea anticorpilor antieritrocitari	10
26.	Determinarea anticorpilor antiendoteliali	10
27.	Determinarea anticorpilor către fibroblaști	10
28.	Determinarea anticorpilor antigranulocitari	10
29.	Determinarea anticorpilor antitrombocitari	10
30.	Determinarea anticorpilor antispermali	10
31.	Determinarea anticorpilor către antigenii sistemei HLA leucocitari	10
	Determinarea anticorpilor către substructurile celulare:	
32.	Determinarea anticorpilor către cardiolipină	10
33.	Determinarea anticorpilor către fosfolipide și fosfatidilserină	10
34.	Determinarea anticorpilor antimitocondriali	10
35.	Determinarea anticorpilor către ADN, histone, centromeri	10
36.	Determinarea anticorpilor către antigenele nucleare extractive	10
37.	Determinarea anticorpilor antimicrosomali	10
38.	Determinarea anticorpilor către metaboliții celulari și receptorii lor	10
39.	Determinarea anticorpilor către imunoglobuline și fragmentele lor	10
40.	Determinarea anticorpilor către hormoni și receptorii lor: -către calcitonină	10
	-către adrenalină și noradrenalină	10
	Sistemul antigenic (receptor) al eritrocitelor	
41.	Determinarea grupelor sangvine ale sistemei ABO	3-10
42.	Determinarea Rh-factorului	3-10
43.	Determinarea subgrupelor sistemului de antigeni al eritrocitelor	10
44.	Proba Coombs directă	4-10
45.	Proba indirectă Coombs	4-10
46.	Determinarea antigenilor complexului principal de histocompatibilitate (HLA)	10
47.	Sistemul antigenic al trombocitelor, granulocitelor, monocitelor etcltor celule ale sângelui	10
	Identificarea T-limfocitelor	
48.	Determinarea antigenilor de diferenciere – CD3, CD4, CD8, CD25 etc.	9,10
49.	Determinarea numărului de limfocite T și subpopulațiilor lor	9,10
50.	Determinarea activității funcționale a limfocitelor T	9,10
51.	Determinarea killerilor naturali etc altor celule imunocompetente	9,10
	Identificarea B-limfocitelor	
52.	Determinarea antigenilor de diferenciere – CD19 etc.	9,10
53.	Determinarea numărului de limfocite B și subpopulațiilor lor	9,10
54.	Determinarea activității funcționale a limfocitelor B	9,10
	Identificarea granulocitelor	
55.	Determinarea antigenilor de diferențiere	10

56.	Determinarea factorilor antimicrobieni al neutrofilelor (proteinele cationice, lizozima, lactoferina, proteazele)	10
	Indicii reactivității modificate	
57.	Determinarea aglutininelor la rece	9,10
58.	Determinarea anticorpilor heterofili	9,10
59.	Determinarea crioglobulinelor	9,10
60.	Determinarea anticorpilor heterofili	9,10
61.	Determinarea complexelor imune circulante (CIC)	9,10
62.	Determinarea degranulației mastocitelor, bazofilelor	9,10
	Factorii umorali ale celulelor imunocompetente și altor celule, care reglează sistemul de homeostază (citochinele)	
63.	Determinarea citochinelor (interleucine, interferoni, TNF etc.)	10
	Indicii imunității antitumoral	
64.	Determinarea alfa-fetoproteinei	7-10
65.	Determinarea antigenului embrionar al cancerului	7-10
66.	Determinarea carboantigenilor: CA-19-9, CA-125, CA-15-3 etc.	7-10
67.	Determinarea antigenului prostatic (PSA total și liber)	5-10
	Indici toleranței imunologice	
68.	Determinarea anticorpilor antiidiotipici	10
69.	Determinarea blocadei receptorilor	10
70.	Determinarea afinității anticorpilor	10
71.	Determinarea factorului reumatoid în lichidele biologice	4-10
72.	Determinarea antihialuronidazei în serul sanguin	4-10
73.	Determinarea anti-O-streptolizinei în serul sanguin	4-10
	VII.Cercetările pentru diagnosticul maladiilor venerice	
	Testele selective pentru sifilis:	
1.	Microreacția (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu plasma sanguină (metoda calitativă)	4-10
2.	Microreacția (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu ser nativ inactivat: - metoda cantitativă - metoda calitativă	4-10
	Teste de diagnostic a sifilisului	
3.	Reacția de fixare a complementului (RFC) cu antigenul treponemic și cardiolipinic cu ser nativ inactivat pentru asigurarea centralizată cu eritrocitele sângelui de berbec -metoda calitativă de termostat -metoda calitativă la rece	10
4.	Reacția de fixare a complementului (RFC) cu antigenul treponemic sau cardiolipinic cu ser nativ inactivat pentru asigurarea centralizată cu eritrocitele sângelui de berbec: -metoda cantitativă	10
5.	Microreacția de precipitare cu antigen cardiolipinic cu ser nativ inactivat: -metoda calitativă -metoda cantitativă	4-10
6.	Reacția de floculare Kahn cu antigenul Kahn cu ser nativ inactivat - metoda calitativă	4-10

7.	Reacția de fixare a complementului cu antigen cardiolipinic și treponemic cu lichidul cefalorahidian pentru asigurarea centralizată cu eritrocitele sângelui de berbec: -metoda calitativă de termostat -metoda calitativă la rece	4-10
	Testele specifice la sifilis	
8.	Reacția de imunofluorescență (RIF-abs) cu ser nativ inactivat cu asigurarea centralizată a antigenului: -metoda calitativă -metoda cantitativă	4-10
9.	Reacția de imunofluorescență (RIF-200) cu ser nativ inactivat cu asigurarea centralizată a antigenului: -metoda calitativă -metoda cantitativă	4-10
10.	Reacția de imunofluorescență (RIF-complet) cu lichid cefalorahidian complet cu asigurarea centralizată a antigenului: -metoda calitativă -metoda cantitativă	10
11.	Determinarea titrului absorbentului la 100 eșantioane de ser sanguin prin efectuarea reactiilor de imunofluorescență (RIF-abs, RIF-200, RIF-c) cu asigurarea centralizată a antigenului	10
12.	Determinarea titrului serului luminescent la 100 eșantioane de ser sanguin prin efectuarea reacțiilor de imunofluorescență (RIF-abs, RIF-200, RIF-c) cu asigurarea centralizată a antigenului	10
13.	Analiza imunoenzimatică (AIE) cu ser nativ inactivat (metoda calitativă)	4-10
	VIII. Cercetări parazitologice	
	Examenul microscopic al urinei (sedimentului urinăr) pentru depistarea:	
1.	Ouălelor de schistozome	4-10
2.	Microfilarii	4-10
3.	Ouălelor de dioctofimoze renale.	4-10
	Examenul microscopic al conținutului duodenal și bilei pentru depistarea:	
4.	Lambliilor	4-10
5.	Larvelor de stronghiliide, anchilostomide	4-10
6.	Ouă de trematode	4-10
	Examenul microscopic al lichidului cefalorahidian pentru depistarea:	
7.	Tripanosomelor	10
8.	Microfilariilor	10
9.	Levurilor de actinomicete, etc.	10
	Examenul microscopic al exsudatelor și transsudatelor pentru depistarea:	
10.	Larvelor de troxocare	10
11.	Microfilariilor	10
12.	Amibei histolitice	
	Examenul microscopic al sputei pentru depistarea:	
13.	Ciupercilor de genul Candida, Aspergillus niger, actinomicetelor	10
14.	Ouălor helminților pulmonari	10

	Examenul microscopic al mucusului nazal pentru depistarea:	
15.	Tomixelor	10
	Examenul microscopic al fecaliilor (colorarea, metoda de flotație) pentru depistarea:	
16.	Protozoarelor (trofozoide, chiste și oochiste)	4-10
17.	Ouă de helminți	4-10
18.	Larve de helminți	4-10
19.	Examenul microscopic al eliminărilor din organele sexuale pentru depistarea trichomonadelor, shistozomelor, entamibelor, amibei histolitice	4-10
	Examenul microscopic al frotiului sângelui și a picăturii groase pentru depistarea:	
20.	Protozoarelor (tripanosome, treponeme, leishmanii, babezii	4-10
21.	Plasmodium (vivax, ovale, falciparum, malariae)	4-10
22.	Microfilarii	4-10
	Examenul microscopic al frotiilor din punctatele măduvei osoase, ficatului, splinei pentru depistarea:	
23.	Leishmaniilor	10
24.	Tripanosomelor	10
25.	Ciupercilor, micozelor profunde (histoplasmelor, levurilor)	10
	Examenul microscopic al punctatelor ganglionilor limfatici pentru depistarea:	
26.	Microfilariilor etcltor larve de helminți	10
27.	Actinomicetelor etcltor ciuperci	10
28.	Toxoplasmelor	10
29.	Tripanosomelor	10
30.	Leishmaniilor	10
	Examenul microscopic al eliminarilor din fistule, raclate, ulcerații pentru depistarea:	
31.	Ciupercilor (Candida, actinomicetelor, histoplasmelor, levurilor)	10
32.	Amibelor	10
33.	Leishmaniilor	10
	Examenul microscopic al raclatelor din pliurile perianale pentru depistarea:	
34.	Ouălelor de Enterobius vermicularis	4-10
35.	Oncosferelor de cestode (Taenia solium, Taenia saginata)	4-10
	Examenul microscopic al bioptatelor pentru depistarea larvelor de:	
36.	Oncocerc (pielea)	10
37.	Trichinella spiralis (mușchii)	10
38.	Toxocar, dirofilarii (pielea, organele lezate)	10
39.	Anizachide (mucoasa stomacală, intestinală)	10
40.	Pneumocist (plămânii)	10
41.	Examenul microscopic al lavajelor acvatice (sedimentului după centrifugare) din intestin pentru depistarea oualelor de helminți, formelor vegetative și chistelor protozoarelor	10
	Cercetări serologice:	
42.	Reacția latex aglutinare (RLA)	4-10
43.	Reacția de aglutinare indirectă (RIA)	4-10
44.	Analiza imunoenzimatică (ELISA)	4-10
45.	Reacția de fixare a complementului	10

46.	Reacţia de imunofluorescenţă indirectă	10
47.	Reacţia cu colorantul Sebin Feldman	10
	Probele alergologice:	
48.	Proba cutanată cu toxoplasmină	4-10
	IX. Cercetări microbiologice	
	A. Cercetarea materialului biologic la microorganismele din:	
1.	Familia Pseudomonadaceae	7-10
2.	Familia Neisseriaceae	7-10
3.	Genul Veillonella	7-10
4.	Genul Flavobacterium	7-10
5.	Familia Enterobacteriaceae	7-10
6.	Familia Vibrionaceae	7-10
7.	Genul Heamophilus	7-10
8.	Familia Bacteroidaceae	7-10
9.	Genul Campylobacter	7-10
10.	Familia Micrococceae	7-10
11.	Genul Streptococcaceae	7-10
12.	Genul Peptococcus	7-10
13.	Genul Peptostreptococcus	7-10
14.	Genul Clostridium	7-10
15.	Genul Listeria	7-10
16.	Genul Corynebacterium	7-10
17.	Genul Gardnerella	7-10
18.	Genul Bifidobacterium	7-10
19.	Genul Candida	7-10
20.	Genul Aspergillus	7-10
21.	Genul Penicillium	7-10
22.	alte microorganisme	7-10
	B. Depistarea microorganismelor	
1.	Microscopia preparatelor necolorate native: - metoda în câmp întunecat - fază-contrast - fluoriscentă	 7-10 7-10 7-10
2.	Microscopia preparatelor colorate native: -colorarea Gram -colorarea cu albastru de metilen -colorarea Giemza -colorarea Ziehl-Nilssen	 7-10 7-10 7-10 7-10
3.	Identificarea microorganismelor: -metoda culturală pentru microorganismele anaerobe -metoda culturală pentru microorganismele aerobe şi facultativ-anaerobe	 7-10 7-10
4.	Determinarea cantitativă: -metoda ansei de calibrare -numărătoarea coloniilor în cutia Petri -diluţia în eprubete	 7-10 7-10 7-10
	Identificarea microorganismelor:	
5.	Familia Pseudomonadaceae până la genul: -Pseudomonas aeruginosa -Pseudomonas fluorescens	 7-10 7-10

	-Pseudomonas putida -alte microorganisme	7-10 7-10
6.	Familia Neisseriaceae până la genul: - Neisseria gonorrhoeae - Neisseria meningitidis - Moraxella catarralis - Moraxella lacunata - Acinetobacter calcoaceticus - alte microorganisme	 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
7.	Genul Flavobacterium până la specia: -F.meningosepticum -alte microorganisme	 7-10 7-10
8.	Familia Enterobacteriaceae până la genul: -Enterobacter cloaceae -Serratia marceasens -Klebsiella ozenae -Hafnia alvei -Klebsiella pneumoniae -Klebsiella rhinoscleromatis -Yersinia enterocolitica -Proteus vulgaris -Proteus mirabilis -Providentia rettgeri -Providentia stuarti -Citobacter freundi -Enterobacter aerogenes	 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
	Până la serovarul:	
9.	-Salmonella	7-10
10.	-Escherichia	7-10
11.	-Shigella	7-10
12.	-alte microorganisme	7-10
13.	Familia Vibrionaceae până la genul: -Vibrio choleria şi alte microorganisme	 7-10
14.	Genul Heamophilus până la genul: -Heamophilus influenzae -Heamophilus hemoliticus -Heamophilus parainfluenzae -alte microorganisme	 7-10 7-10 7-10 7-10
15.	Familia Bacteroidaceae până la genul: -Bacteroides - Fusobacterium - Leptotrichia - alte microorganisme	 7-10 7-10 7-10 7-10
16.	Genul Campylobacter până la genul: -Campylobacter pyloridis -Campylobacter jejuni -Campylobacter fecalis -alte microorganisme	 7-10 7-10 7-10 7-10
17.	Familia Micrococceae până la genul: -Staphylococcus aureus -Staphylococcus epidermidis -Staphylococcus saprophyticus	 7-10 7-10 7-10

	-alte microorganisme	7-10
18.	Genul Streptococcaceae până la genul: -Streptococcus pyogenes -Streptococcus agalactiae -Streptococcus pneumoniae -Streptococcus salivarius -Streptococcus sanguis -Streptococcus faecalis -Streptococcus faecium -alte microorganisme	 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
19.	Genul Clostridium până la genul: -Clostridium botulinum -Clostridium perfringens -Clostridium septicum -Clostridium difficilae -alte microorganisme	 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
20.	Genul Listeria până la genul: -Listeria monocytogenes -alte microorganisme	 7-10 7-10
21.	Genul Corynebacterium până la genul: -Corynebacterium diphtheriae -alte microorganisme	 7-10 7-10
22.	Genul Gardnerella până la genul: -Gardnerella vaginalis -alte microorganisme	 7-10 7-10
23.	Genul Candida până la genul: -Candida albicans -alte microorganisme	 7-10 7-10
24.	După proprietatile morfologice şi tinctoriale: - colorarea cu albastru de metilen - colorarea Gram - colorarea Gims - colorarea cu soluţie alcalină de albastru de metilen după Leffler - colorarea Ziehl-Nilssen - colorarea Giemza	 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
25.	După proprietăţile culturale (cultivarea pe medii diferenţial-diagnostice): -agar lactat-vitalin-salin -5% agar sanguin -agar vitalin alcalinizat -lactat cu 0,1% albastru de metilen -mediu enterococic diferenţial-diagnostic -10% bulion biliar cu indicator Andrede -mediu Hiu-Leifson cu glucoză, lactoză, maltoză, zaharoză, fructoză -agar nutritiv cu 5% zaharoză -0,5% agar biliar -mediu Cristensen cu uree -mediu Simmons -mediu pentru montarea testului cu iod -agar cu sânge incalzit -mediu cu indicator Andrede (glucoză, lactoză, zaharoză, fructoză) -mediu Olkenitki	7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10

	-mediu pentru depistarea decarboxilazelor aminoacizilor -mediu pentru determinarea fenilalanindezaminazei -mediu Clark -mediu King A -agar acetamidic -gelatină nutritivă -alte medii	7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
26.	După teste biochimice: -testul pentru catalază -testul pentru citocromoxidază -testul Hiu-Leifson -testul de plasmocoagulare -determinarea ADN -testul pentru fosfatază -reducerea nitraților și nitriților -determinarea enzimei -determinarea fenilalanindezaminazei -determinarea gelatinazei -determinarea formarii indolului -determinarea β-galactozidazei -testul Foges-Proscauer -determinarea lizindecarboxilazei -determinarea ornitindecarboxilazei -fermentarea glucidelor : glucozei,lactozei, zaharozei -testul cu adonit -testul cu dulcită -testul cu inozitol -testul cu manitol -testul cu salicilină -testul cu sorbitol -testul cu malonat -determinarea hidrogenului sulfurat -testul cu rosu de metil	 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10 7-10
27.	Sisteme de hârtii indicatoare, 25 denumiri: glucoza, lactoza,zaharoza, rabinoza, manitol, inozitol, ramnoza, xiloza, maltoza, sorbitol, adonit, silicina, dulcita, indol, ureaza, oxidaza, ? -galactozidaza, lizina, ornitina, hidrogenul sulfurat, fenilalanina, utilizarea malonatului de sodiu, citratului de sodiu, gelatinei	7-10
28.	Cromatografia gazoasă - alte teste	7-10 7-10
29.	După proprietățile serologice: -aglutinația pe sticlă cu seruri diagnostice -aglutinația în eprubete cu seruri diagnostice -reacția de neutralizare	 7-10 7-10 7-10
30.	Metoda imunofluorescentă: a) directă b) indirectă	 7-10 7-10
31.	Analiza imunoenzimatică	7-10
32.	Fagotipaj	7-10
33.	Determinarea sensibilității microorganismelor la antibiotice și alte preparate chimioterapeutice: -metoda de difuzie în agar cu utilizarea discurilor de hârtie	 7-10

	-metode accelerate (automatizate)	7-10
34.	Determinarea concentrației antibioticelor în lichidele biologice (sânge, urină și alte materiale)	
35.	Determinarea sensibilității microorganismelor la bacteriofag	7-10
Cercetările microbiologice pentru controlul sanitaro-bacteriologic al instituțiilor medicale		
36.	Examenul diseminării microbiene: -mediului aerian în secțiile de profil chirurgical, saloanele și secțiile de reanimare și terapie intensivă, maternități -în soluțiile medicamentoase pentru injecții, apă distilată, folosită pentru pregătirea formelor medicamentoase	7-10 7-10
37.	Examenul la sterilitatea materialului chirurgical (instrumentelor, materialului de suturare, de pansament, lenjeriei), mâinilor chirurgului, pielii câmpului operator	7-10
38.	Examenul bacteriologic pentru depistarea purtătorilor de S. aureus	7-10

X. Cercetări virusologice

Nr. d/o	Denumirea cercetărilor	Laboratorul centralizat de microbiologie clinică	Laboratoarele spitalelor care au secții de boli infecțioase
	Identificarea antigenilor și anticorpilor virali în bioprobele prelevate de la pacienți, materialul necroptic prin metoda imunofluorescenței indirecte a virusurilor:		
1.	Gripei	+	+
2.	Paragripei	+	+
3.	Respirator-sintițiali	+	+
4.	Adenovirusurilor	+	+
5.	Enterovirusurilor Koksaki grupei B	+	+
6.	Enterovirusurilor grupei ECHO	+	+
7.	Encefalitei endemice	+	+
8.	Poliomielitei	+	+
9.	Rotavirusurilor	+	+
10.	Herpesului	+	+
Identificarea antigenilor virali în eșantioanele probelor prelevate de la pacienți, din materialul necroptic prin metoda imunoenzimatică a virusurilor:			
11.	Hepatitei B (antigenul superficial HBSA)	+	+
12.	Hepatitei A	+	+
13.	Hepatitei C	+	+
14.	Herpex simplex tip I și II	+	+
15.	Citomegalovirusului	+	+
16.	Encefalitei endemice	+	+
17.	Mononucleozei infecțioase	+	+
18.	Parotitei epidemice	+	+
19.	Rotavirusurilor	+	+
20.	Rubeolei	+	+
21.	Rujeolei	+	+
Identificarea anticorpilor virali în eșantioanele probelor prelevate de la pacienți, din materialul necroptic prin metoda imunoenzimatică a virusurilor			
22.	Hepatitei B	+	+
23.	Hepatitei A	+	+
24.	Hepatitei C	+	+
25.	Herpex simplex	+	+

28.	Citomegalovirusului	+	+
29.	Encefalitei endemice	+	+
30.	Enterovirusurilor Koksaki	+	+
31.	Imunoglobulinelor IgM către virusul Delta	+	+
32.	Imunoglobulinelor IgM către virusul hepatitei E	+	+
33.	Mononucleozei infecţioase	+	+
34.	Paragripei	+	+
35.	Parotitei epidemice	+	+
36.	Poliomielitei	+	+
37.	Rubeolei	+	+
38.	Rujeolei	+	+
39.	Adenovirusurilor	+	+

CAPITOLUL 5

LISTA APARATURII, UTILAJULUI ŞI USTENSILELOR DE LABORATOR RECOMANDATE PENTRU LABORATOARELE DE DIAGNOSTIC CLINIC

A. Serviciul asistenţă medicală primară şi asistenţă specializată de ambulator

Nr. d/o	DENUMIREA UTILAJULUI	Numărul utilajului în dependenţă de numărul populaţiei deservite			
		Serviciul Asistenţă Medicală Primară		Serviciul asistenţă specializată de ambulator	
		Oficiul Medici-lor de Familie	Centrul de Sănătate		
		1500-2000 locuitori	Mai mult de 2000 locuitori	Până la 80 mii locuitori	Mai mult de 80 mii Locuitori
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
	Dispozitive şi echipament special				
1.	Computer dotat cu programe	1	1	2	3
2.	Detergenţi, soluţii dezinfectante				
3.	Sisteme de unică folosinţă pt. colectarea materialului biologic (sânge, urină, spută, materii fecale etc.)	5000 un	10000 un	40000 un	60000 un
4.	Trusă de prim-ajutor pentru acordarea primului ajutor medical	1	1	5	8
5.	Ustensile pentru protecţia muncii în set: flacon pentru spălat ochii; mască antipraf; ochelari de protecţie; mască de protecţie; mănuşi pentru laborator, halate medicale.	1	2	5 set	8 set
A. INVESTIGAŢII CLINICE GENERALE, HEMATOLOGICE, CITOLOGICE ŞI IMUNOLOGICE					
1.	Analizor imunoenzimatic automat în set cu spălătorul, incubatorul şi agitatorul pentru plăci cu godeuri	-	-	1	2
2.	Analizor al hemiluminogramelor *	-	-	-	-
3.	Analizor automat imunohemiluminiscent *	-	-	-	-
4.	Analizor automat multicomponent al urinei pentru citirea stripurilor diagnostice	-	-	3	6
5.	Analizor automat pentru hemoglobina A_{1c}	-	-	-	-
6.	Analizor hematologic automat	-	-	1	3
7.	Analizor hematologic semiautomat	-	2^	2	5
8.	Analizor imunoenzimatic în complect cu spălător, incubator şi agitator de planşete	-	1^	1	2

9.	Analizor pentru numărarea formulei leucocitare	-	-	1	2
10.	Aparat sau dispozitiv manual pentru fixarea şi colorarea frotiurilor de sânge	1	1	2	4
11.	Arhivă de micropreparate	-	-	-	-
12.	Calculator de laborator electronic pentru numărarea formulei leucocitare	1	-	3	5
13.	Camere de numărare pt. microscopie Goreaev	5	15	20	25
14.	Camere de numărare pt. microscopie Fux-Rozental	-	-	-	-
15.	Centrifugă de laborator de masă pentru eprubete cu sânge şi urină	1	2	5	8
16.	Centrifugă pentru pregătirea preparatelor citologice	-	-	-	-
17.	Set automatizat pentru analiza hemiluminiscentă *	-	-	-	1
18.	Set de dispozitive pentru prepararea probelor la examinarea coprologică	1	2	2	3
19.	Dispozitiv automat pentru colorarea preparatelor citologice	-	-	1^	1
20.	Dispozitiv automat pentru fixarea şi colorarea frotiurilor de sânge	-	-	1^	2
21.	Dispozitiv pentru determinarea VSH	2	4	10	15
22.	Flow-citometru	-	-	-	1^
23.	Fotometru cu reflexie pentru citirea stripurilor diagnostice	1	1	3	4
24.	Hemocalculator (calculator electronic ptr numărarea formulei leucocitare)	3	5	8	10
25.	Hemocalculator automat	-	-	1^	2
26.	Hemocitometru conductometric (eritrocite, leucocite)	1	1	2	4
27.	Hemoglobinometru fotoelectric portativ	1	1	2	2
28.	Ionometru pH-metru de laborator	-	-	1	1
29.	Loc de lucru automatizat pentru medicul hemostaziolog	-	-	1	1
30.	Loc de lucru automatizat pentru medicul imunocitolog	-	-	-	-
31.	Microscop conectat la computator şi camera video pentru morfometrie	-	-	1	1
32.	Microscop cu fluoriscenţă	-	-	1^	1
33.	Microscop de laborator binocular cu imersie, iluminator şi dispozitiv pentru obţinerea contrastului de fază	2	3	6	8
34.	Minicentrifugă pentru determinarea hematocritului	1	1	1	2
35.	Minicentrifugă pentru eprubete de tip Eppendorf	-	-	1	2
36.	Pipete digitale mecanice sau electronice cu 8 canale cu volumul variabil 5-50 mkl, 50-250 mkl	-	-	1	2

37.	Trusă pentru colectarea probelor de sânge în staţionar şi la domiciliu	1	2	2	3
38.	Urometre	4	8	16	20
	B.INVESTIGAŢII BIOCHIMICE				
1.	Analizor biochimic automat multicanal cu productivitatea peste 300 an/h	-	-	-	1
2.	Analizor semiautomat multicanal pentru analize biochimice şi imuno-turbimetrice	-	-	2	2
3.	Analizor biochimic programabil monocanal cu cuvă curgătoare şi de unică folosinţă cu termostatare cu productivitatea de până la 60 an/h	-	1	2	3
4.	Analizor fluorimetric	-	-	1	1
5.	Analizor ionselectiv pentru dozarea elecrtoliţilor: Na,K, Ca, CI, Mg, Li	-	-	1	1
6.	Analizor pentru dozarea aminelor biogene	-	-	-	1^
7.	Analizor pentru dozarea catecolaminelor în urină	-	-	-	1^
8.	Analizor pentru dozarea glucozei prin metoda expres	-	-	2	3
9.	Analizor şi utilaj pentru cercetări imunofluorescente şi hemiluminiscente	-	-	1^	1
10.	Aparat pentru electroforeză în set cu densitometru cu laser	-	-	1^	1
11.	Cromatograf pt. cromatografia de înaltă eficienţă în lichid *	-	-	-	-
12.	Cromatograf cu gaze*	-	-	-	-
13.	Fluorometru*	-	-	-	1^
14.	Fotometru programabil cu cuvă curgătoare şi de unică folosinţă cu termostatare (pentru laboratoare medii şi mici)	1	1	-	-
15.	Fotometru cu reflexie automat pentru citirea stripurilor diagnostice (10 parametri al analizei urinei)	-	-	-	2
16.	Minicentrifugă pentru eprubete de tip Eppendorf	-	1	2	4
17.	PH-metru de laborator	-	1	1	1
18.	Sistema de electrogoreză computerizată*	-	-	-	1
19.	Spectrofluorometru*	-	-	-	-
20.	Spectrofotometru cu absorbtie atomică*	-	-	-	-
21.	Spectrofotometru cu domeniul spectral 190 – 1000 nm dublu fascicol	-	-	1	1
22.	Trusă pentru colectarea probelor de sânge pentru analizele biochimice	1	2	6	9
	C. CERCETĂRI ALE SISTEMULUI DE HEMOSTAZĂ				
1.	Agregometru	-	-	-	1
2.	Analizor al agregării trombocitelor	-	-	-	1^
3.	Analizor al trombocitelor cu laser*	-	-	-	-
4.	Analizor fotometric tip "flow cell"	-	1	1	1
5.	Coagulometru semiautomat	-	1^	1	2

6.	Coagulometru automat cu multe canale cu computator	-	-	-	1
7.	Cronometru temporizator (taimer) cu 5 canale	1	1	2	3
8.	Termostat cu pereți transparenți pentru determinarea parametrilor hemostazei	1	1	2	4
	D. INVESTIGAȚII ÎN BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI GENETICA MEDICALĂ				
1.	ADN – amplificator *	-	-	-	-
2.	Analizor automat pt. reacția de polimerizare în lanț (PCR)*	-	-	-	-
3.	Aparat pentru puls-electroforeza ADN *	-	-	-	-
4.	Aparat pt. agitare tip "Vortex"*				
5.	Centrifugă de masă cu răcire pt. eprubete tip Eppendorf până la 20 000 g*	-	-	-	-
6.	CO2 – incubator*				
7.	Dulap steril cu șuvoi de aer laminar*	-	-	-	-
8.	Pipete digitale mecanice sau electronice monocanal pt. PCR cu volumul variabil 0,5 – 25 mkl, 20 – 200 mkl*	-	-	-	-
9.	Sistema pt. electroforeză în gel în complet – camera, suportul de gel, blocul de alimentare etc.)*				
10.	Transiluminator cu ultraviolet*	-	-	-	-
	E. INVESTIGAȚII MICROBIOLOGICE				
1.	Aglutinoscop	-	-	1	1
2.	Analizor microbiologic automat în complet cu test-sisteme	-	-	-	1^
3.	Analizor și dispozitive pentru cercetări imunoenzimatice	-	-	-	1
4.	Anaerostat	-	-	-	1
5.	Ansă pentru cercetări microbiologice	2	6	7	8
6.	Aparat de măsurat Florinsky pentru cercetări serologice (set)	1	2	4	5
7.	Aparat sau dispozitiv pt. fixarea și colorarea frotiurilor pe lame	-	1	1	1
8.	Aparat pentru coagularea și inactivarea serului	-	1	1	1
9.	Aparat pentru defibfinizarea plasmei	-	-	-	1
10.	Aparat pentru analiza bacteriologică a aerului	-	-	-	4
11.	Aparat pentru recoltarea probelor de aer	-	-	-	4
12.	Aparat semiautomat pentru dozarea mediilor de cultură	-	-	-	1
13.	CO_2 – incubator pentru lucrul cu culturi*	-	-	-	-
14.	Cromatograf cu gaz în complect cu detector cu flacără ionizant	-	-	-	-
15.	Dispensor pentru discuri îmbibate cu antibiotice	-	-	-	6
16.	Dispozitiv automat pentru numărarea coloniilor de bacterii	-	-	-	1^

17.	Dispozitiv pentru numărarea coloniilor de bacterii	-	-	-	1
18.	Dulap steril cu şuvoi de aer laminar	-	-	2^	2^
19.	Echipament cu ultraviolete pentru dezinfecţia aerului, suprafeţelor şi a încăperilor	1	1	2	3
20.	Ionometru pH-metru de laborator	-	-	-	1
21.	Loc de lucru automatizat pentru medicul bacteriolog		-	-	1^
22.	Lupă binoculară	-	-	-	-
23.	Lupă de mînă	-	-	-	-
24.	Microscop binocular cu imersie, iluminator şi condensor cu câmp întunecat	-	-	-	1
25.	Microscop stereoscopic	-	-	-	1^
26.	Microscop cu fluorescenţă	-	-	-	1
27.	Sistem semiautomat pentru cercetări microbiologice	-	-	-	1
28.	Ustensile pt. microbiologie: plăci pt. microtitrare, plăci şi vase pt. culturi, cutii Petri, pipete Pasteur, ace şi anse pt. însămânţări, folie protectoare "Parafilm", pare pt. pipetare etc.	-	-	-	2
	F. INSTRUMENTAR MEDICAL				
1.	Ace pentru prelevarea sângelui	2000	5000	30000	50000
2.	Bisturiu cu vârful eficat	1	1	2	4
3.	Cleme pentru tuburi elastice	1	2	15	25
4.	Condensor de câmp întunecat	-	1	1	1
5.	Cornţang cu braţe drepte	1	4	4	6
6.	Foarfece chirurgical cu vârfurile boante	2	2	4	6
7.	Lancetă-scarificator de o singură folosinţă	1000	2000	30000	50000
8.	Lupă binoculară	-	1	1	2
9.	Pensă oculară anatomică	-	-	-	5
10.	Pensă anatomică (mărimi diferite)	1	1	2	12
11.	Pensă chirurgicală (mărimi diferite)	2	5	5	10
12.	Pensă oculară chirurgicală (set)	-	-	-	5
13.	Scarificator pentru prelevarea sângelui prin metoda fără contact	-	1	1	2
14.	Seringi cu ac de unică folosinţă sterile de la 1 până la 10 ml	2000	5000	30000	50000
15.	Spatulă de o singură folosinţă, mii	1	2	3	5
16.	Spatulă medicală de metal inox	5	10	50	100
	G. ARTICOLE ŞI OBIECTE DE UZ GENERAL ŞI SPECIAL				
1.	Accesorii pentru pipete digitale mecanice sau electronice (stative, tăviţe pt.lichide, filtre pt.pipete, vârfuri pt.pipete)	1500	5000	50000	80000
2.	Acvadistilator	1	1	2	2
3.	Agitator magnetic cu încălzire	-	-	1^	1

4.	Agitator magnetic fără încălzire	-	-	1^	1
5.	Aparat pentru bidistilarea apei	-	-	1	1
6.	Aparat pentru obținerea apei deionizate	-	1	1	2
7.	Aparat sau dispozitiv pentru fixarea și colorarea frotiurilor de sânge pe lame	1	1	1	2
8.	Aparat universal pentru scuturare	-	1	2	3
9.	Areometre (Set)	1	1	1	2
10.	Areometre pentru determinarea densității acizilor (Set)	-	1	1	1
11.	Autoclav	-	1	1	3
12.	Baie de apă electrică pentru laborator	1	2	3	4
13.	Baie de nisip	-	-	1	1
14.	Balanță pentru echilibrarea eprubetelor de centrifugare	1	2	5	8
15.	Balanțe analitice electronice cu rezoluția de 0,1 mg	-	-	1	2
16.	Balanțe cu torsiune cu capacitatea de 500 mg și 1000 mg	-	2	4	12
17.	Balanțe de laborator cu rezoluția de 1 mg	-	4	7	8
18.	Balanțe de laborator cu rezoluția de 10 mg	2	2	2	4
19.	Cameră de uscat prin liofilizare	-	-	-	1
20.	Cameră de uscat cu vacuum	-	-	-	-
21.	Ceas cu nisip	1	3	5	10
22.	Ceas temporizator (taimer)	1	3	4	5
23.	Centrifugă de laborator de masă multifuncțională cu ventilare	-	-	1	2
24.	Centrifugă de laborator cu multe cupe	-	-	3	5
25.	Centrifugă de laborator (500 – 3000 tur/min)	2	4	9	12
26.	Chiuvetă pentru colorarea frotiurilor de sânge pe lame	1	2	2	4
27.	Cronometru – secundometru	2	4	10	15
28.	Casoletă	1	2	4	10
29.	Cutii de păstrare lame pentru metode citologice manuale (25,50,100 lame)	1	2	4	5
30.	Dispozitiv pentru perforarea dopurilor	-	1	1	1
31.	Dispozitiv pentru pregătirea dopurilor de vată	-	-	-	1
32.	Dozatoare automate pentru lucrul cu medii agresive	-	4	8	10
33.	Dozatoare de pipetare de laborator cu volum de diferită capacitate (Set)	2	4	8	12
34.	Dozator diluter automat cu microprocesor cu programare și capacitate de dozare până la 5000 mkl	-	-	1	2
35.	Dulap de ventilație	1	2	3	6
36.	Etuve universale pentru uscare și sterilizare cu limitele de temperatură de la 55 până la 200 °C	1	2	6	8
37.	Fierbător electric	1	2	3	4

38.	Filtre de hârtie (discuri) de diferite dimensiuni (Set)	1	3	6	10
39.	Frigider cu congelator până la –18 ^{0}C	-	-	1	2
40.	Frigider electric obişnuit	1	2	5	8
41.	Greutăţi de calibrare	-	-	1^	2
42.	Hârtie cromatografică*	-	-	-	-
43.	Hârtie de filtru	2 kg	3 kg	6 kg	10 kg
44.	Lampă cu spirt	1	2	3	4
45.	Lupă de mână	1	2	2	5
46.	Mâner pentru ace şi anse de platină	-	-	-	2
47.	Obiectiv-micrometru	-	-	1	2
48.	Ocular de prezentare	-	-	-	1
49.	Ocular-micrometru	-	1	1	2
50.	Microscop de prezentate	-	-	-	1
51.	Picurătoare	7	10	15	20
52.	Pipete digitale mecanice sau electronice monocanal cu volumul variabil 5-1000 mkl (complect din 5 unităţi)	1	3	5	10
53.	Pipete digitale mecanice sau electronice cu 8 canale cu volumul variabil 5-50 mkl, 50-250 mkl	-	-	2	4
54	Planşete pentru păstrarea lamelor	5	10	40	50
	Plăci pentru determinarea grupelor de sânge, factorului Rhesus	-	-	2	4
55.	Plăci de o singură folosinţă cu 96 godeuri pentru reacţii imunologice	-	2	2	5
56.	Plăci pentru biochimie (standarde şi modificate)	-	4	8	10
57.	Plăci pentru culturi tisulare cu 4 godeuri	-	-	1	1
58.	PH-metru de laborator	-	-	1	2
59.	Pompă cu vid (cu apă sau ulei)	-	-	1	2
60.	Refrigerator autonom portativ	-	1	1	2
61.	Sisteme de unică folosinţă pt. colectarea materialului biologic (sânge, urină, materii fecale etc)	2000	5000	60000	100000
62.	Scuturător de laborator	-	-	2	3
63.	Sistema pentru obţinerea apei deionizate	-	-	-	1^
65.	Spălător automat pentru analiza imunoenzimatică	-	-	1	1
66.	Spălător manual pentru analiza imunoenzimatică	-	-	1	2
67.	Spălător pentru microplanşete	-	-	1	1
68.	Spălător semiautomat pentru analiza imunoenzimatică	-	-	1	1
69.	Autoclav	-	1	1	2
70.	Sterilizator cu aer cald	1	1	2	3
71.	Termometru de laborator	2	3	5	8
72.	Termometru medical	2	4	6	10
73.	Termostat bacteriologic tip TPC-100	-	-	-	2
74.	Termostat electric	-	3	5	7
75.	Termostat pentru plăci cu 96 godeuri	-	-	1	2

76.	Termostat pentru turnarea parafinei	-	-	-	1
77.	Umidometru, barometru şi termometru (dispozitiv de perete cu trei funcţii pt. determinarea umidităţii, presiunii şi temperaturii în încăperi).	1	2	5	8
78.	Ustensile din plastic de unică folosinţă pt.laboratoarele clinice (stative, suporturi pt. tuburi de test, tuburi de centrifugare etc)	200	500	4000	10000
79.	Ustensile metalice de laborator (stative, mufe, cleme, stative pt. eprubete, linguri dozatoare, spatule, pensete, cleşti, trompe de apă etc)	250	250	1000	2000
	Echipament de laborator din sticlă şi plastic				
1.	Baloane conice de diferite dimensiuni	7	13	15	25
2.	Baloane cotate de diferite dimensiuni	7	13	15	25
3.	Baloane cu fundul plat de diferite dimensiuni	-	**	**	**
4.	Bastonaşe de sticlă	300	500	2000	5000
5.	Biurete cu gradaţii Mohr	-	**	**	**
6.	Biurete cu gradaţii şi robinet	-	**	**	**
7.	Borcan cu capac cu capacitatea 1,5 L şi 5 L	-	**	**	**
8.	Borcane pentru turnarea şi păstrarea biopreparatelor cu volumul 50, 100, 250 ml	-	**	**	**
9.	Capilar Pancenko (pentru VSH)	1000	2000	20000	30000
10.	Capilar pentru hematocrit	-	5000	20000	30000
11.	Capilar Sahli	15	25	30	50
12.	Cilindri gradaţi de diferite dimensiuni	8	10	20	25
13.	Cilindri pentru soluţii fără gradaţii, 250 ml	-	5	10	15
14.	Cratiţe de diferite dimensiuni	-	-	20	30
15.	Creioane pentru sticlă şi porţelan (roşu şi albastru)	8	10	30	50
16.	Cuve de polistirol de unică folosinţă pentru fotometre	2000	10000	20000	30000
17.	Eprubete biologice, Florinski, Can, Vidal etc.	2000	10000	20000	30000
18.	Eprubete chimice (diferite)	500	3000	15000	20000
19.	Eprubete din masă plastică cu capac sterile (3 ml, 5 ml, 14 ml, 50 ml)	1500	5000	15000	25000
20.	Eprubete gradate conice 10, 20 ml	1000	5000	15000	20000
21.	Eprubete pentru centrifugare fără gradaţii	500	1000	5000	10000
22.	Eprubete pentru centrifugare gradate	100	500	2000	5000
23.	Exicator cu capac şi robinet	-	**	**	**
24.	Fiole de cântărire (set)	-	10	20	50
25.	Flacoane din polietilenă 125 ml	-	1250	30000	50000
26.	Flacoane pentru păstrarea mediilor de cultură	-	-		
27.	Flacoane pentru sânge 50, 100, 250, 450 ml	-	10	40	50
28.	Lame	1000	5000	15000	20000
29.	Lamele	500	1000	8000	10000

30.	Microeprubete de 1,5 ml din plastic cu capac de unică folosință	2000	4000	10000	15000
31.	Pahare cotate de diferite dimensiuni	2	5	5	10
32.	Pahare de laborator gradate și fără gradații	5	15	30	50
33.	Pahare de laborator Grifin de diferite dimensiuni	-	5	5	10
34.	Pahare de porțelan de diferite dimensiuni	-	5	5	10
35.	Pâlnie	5	10	15	25
36.	Pâlnii de separare (50, 100, 250 ml)	-	5	10	20
37.	Pară de cauciuc pentru pipete	10	15	20	25
38.	Pipetă Pasteur	-	500	1000	5000
39.	Pipete gradate de diferite dimensiuni	-	50	60	100
40.	Piuliță de porțelan cu pisălog	-	2	3	5
41.	Piuliță de porțelan pentru evaporare	-	1	1	1
42.	Cuvă renală	5	10	40	80
43.	Tuburi de sticlă	-	100	200	500
44.	Tuburi din cauciuc și silicon de diferite dimensiuni	1 kg	3 kg	10 kg	20 kg
	Seturi de reactivi, test sisteme, reagenți de laborator (clinica generală, hematologia, biochimia, citologia, imunologia, microbiologia)				
1.	Colorant azur-eozină Romanovski-Giemza, praf	0,25 kg	0,50 kg	1 kg	2 kg
2.	Colorant azur-eozină Romanovski-Giemza, soluție	2 litri	5 litri	40 litri	80 litri
3.	Colorant eozină albastru de metilen Leischman, soluție	2 litri	5 litri	30 litri	50 litri
4.	Colorant eozină albastru de metilen May-Grundwald, soluție	1 litru	2 litri	10 litri	20 litri
5.	Set de rechizite pentru cromatografia în lichid*	-	-	-	-
6.	Set de rechizite pentru cromatografia în strat subțire*	-	-	-	-
7.	Set de acizi pentru laboratoarele de diagnostic clinic	1	2	3	5
8.	Set de materiale de control și calibratori	13	20	25	40
9.	Set de reagenți (96 godeuri) pentru diagnosticul hormonal al maladiilor: hormonilor tiroidieni, paratiroidieni, hipotalamo-hipofizari, pancreasului, suprarenalelor, sexuali, etc.	-	-	50	100
10.	Set de reagenți pentru diagnosticul serologic al sifilisului	-	20	30	40
11.	Set de reagenți pentru (96 godeuri) dozarea marcherilor tumorali: AFP, PSA, CA 15-3, CA 125, CA 19-9, feritinei, etc	-	-	50	100
12.	Set de reagenți pentru dozarea biliribinei și fracțiilor ei în serul sanguin	-	7 ml x 50	250ml x 30	250ml x 50
13.	Set de reagenți pentru dozarea componentelor sistemului complement: C3, C4, factorului properdinic beta, C1 inhibitorului esterazei, etc (pentru fiecare component)	-	-	5	10

14.	Set de reagenţi pentru dozarea electroliţilor şi microelementelor: Na, K, Cl, P, Mg, I, Zn, Cu, Fe ,etc	-	-	250ml x 30	250ml x 50
15.	Set de reagenţi (1000 ml) pentru dozarea hemoglobinei în sânge	10	20	100	150
16.	Set de reagenţi (150 ml) pentru dozarea imunoglobulinelor A,G,M,E, etc	-	-	3	4
17.	Set de reagenţi (500 ml) pentru dozarea microproteinuriei, microalbuminuriei	-	-	50	70
18.	Set de reagenţi (5 ml) pentru dozarea proteinelor fazei acute a inflamaţiei: proteina-C reactantă, alfa-1-glicoproteina acidă, alfa-1-antitripsina, alfa-2-macroglobulina, haptoglobina, ceruloplasmina, factorul reumatoid, fibrinogenul, etc.	-	10	30	40
19.	Set de reagenţi (96 godeuri)pentru analiza imunoenzimatică	-	10	30	50
20.	Set de reagenţi (1000 ml) pentru cercetarea metabolismului proteic şi azotat: dozarea proteinei totale după Lowry, metoda biuret, cu roşu de pirogalol, dozarea albuminei, ureei, creatininei, acidului uric etc.	-	10	50	100
21.	Set de reagenţi (1000 ml) pentru cercetarea metabolismului glucidic: dozarea glucozei prin metoda glucozoxidazică şi hexokinazică, fructozaminei, hemoglobinei A_{1c}, acidului lactic, piruvic, sialic, seromucoizilor, etc.	-	10	50	100
22.	Set de reagenţi (500 ml) pentru cercetarea metabolismului lipidic: dozarea colesterolului total, colesterolului-LDL şi HDL, lipidelor totale, trigliceridelor, fosfolipidelor, beta-lipoproteidelor, lipoproteinei A, etc.	-	10	25	50
23.	Set de reagenţi (100 ml) pentru cercetarea sistemului de hemostază	-	15	25	50
24.	Set de reagenţi (50 stipuri) pentru depistarea sângelui ocult (materii fecale, urină, etc)	-	10	15	25
25.	Set de reagenţi (1000 ml) pentru diagnosticul enzimatic al maladiilor: dozarea fosfatazei acide şi alcaline, ALAT, ASAT, gama-GPT, LDH, PCE, HBDH, GDH, CFK, lipazei totale şi pancreatice, amilazei, etc.	-	-	30	50
26.	Set-standard de hemoglobincianidă (15 ml)	5	10	15	25
27.	Discuri cu antibiotice	-	-	-	**
28.	Material de control atestat pentru lichidul cefalorahidian	-	-	3	5

29.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul proteinelor fazei acute a inflamației	-	-	10	15
30.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul cardiomarcherilor	-	-	10	15
31.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul diabetului zaharat	-	-	15	20
32.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul hormonilor	-	-	10000	2000
33.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul oncomarcherilor	-	-	10	15
34.	Material de control atestat (40 ml) pentru monitoringul metodelor de analiză a urinei	-	-	15	20
35.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul parametrilor imunologici și medicamentelor	-	-	10	15
36.	Material de control atestat (10 ml) pentru monitoringul spectrului lipidic	-	-	10	15
37.	Material de control atestat și neatestat (100 ml)pentru cercetări biochimice	-	-	50	70
38.	Medii nutritive Giss (cu manitol, zaharoză, lactoză, glucoză)	-	-	-	20
39.	Medii nutritive și baze	-	-	-	20
40.	Medii nutritive uscate	-	-	-	20
41.	Reactivi chimici (acizi, baze, săruri, coloranți, indicatori, compuși organici, etc)	**	**	**	**
42.	Seruri diagnostice, anticorpi și antigeni	-	-	**	**
43.	Test sisteme imunodiagnostice pentru determinarea subpopulațiilor de limfocite	-	-	-	1^
44.	Test sisteme imunoenzimatice și eritrocitare	-	-	-	1^
45.	Teste cromatografice pentru monitoringul diabetului zaharat	-	1^	1^	1
	Stripuri pentru expres-diagnosticul maladiilor				
1.	Stripuri pentru diagnosticul alergen-specific	-	-		
2.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea albuminei în materiile fecale	-	10	15	20
3.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea albuminei în urină	5	10	15	20
4.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea PH, glucozei, proteinei în urină	50	100	150	200
5.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea PH, nitriților proteinei și glucozei în urină	50	100	150	200
6.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea densității relative, PH, nitriților, glucozei, proteinei, sângelui (eritrocitelor, Hb) și leucocitelor în urină	100	150	200	300

7.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea PH, proteinei, glucozei, corpurilor cetonici, urobilinogenului, bilirubinei, leucocitelor, nitriților, sângelui (eritrocitelor, Hb) în urină	25	35	50	70
8.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea cantitatică și semicantitativă a urobilinogenului în urină	7	10	15	20
9.	Stripuri diagnostice (50) pentru determinarea leucocitelor în urină	7	10	15	20
10.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea nitriților în urină	-	10	15	20
11.	Stripuri diagnostice pentru determinarea sângelui (eritrocitelor, Hb) în urină	7	10	15	20
12.	Stripuri diagnostice (50 st) pentru determinarea proteinei, urobilinogenului, sângelui (eritrocitelor, Hb) în urină	15	20	30	40
13.	Test-sisteme (96 godeuri) pentru expres diagnosticul și depistarea bolilor infecțioase	-	-	50	100
	H. MOBILĂ DE LABORATOR				
1.	Covoraș din cauciuc dielectric	-	10	15	20
2.	Dulap medical pentru haine	1	2	5	8
3.	Dulap cu vitrină	-	-	3	5
4.	Dulap de uscare	-	1	1	2
5.	Dulap pentru aparate	-	2	3	4
6.	Dulap pentru materiale de lucru	1	2	3	4
7.	Dulap pentru medii nutritive pregătite	-	-	-	1
8.	Dulap pentru preparate diagnostice	-	1	2	3
9.	Dulap pentru reactivi chimici	-	2	4	5
10.	Dulap pentru vesela de laborator	1	2	4	6
11.	Masă de laborator cu cuvetă	-	1	3	4
12.	Masă de laborator cu dispozitiv de ventilare	1	1	2	4
13.	Masă de laborator cu picioare	-	2	7	10
14.	Masă de laborator cu roți	1	1	5	8
15.	Masă de laborator pentru dispozitivul de uscare	-	1	1	2
16.	Masă de laborator pentru examenul proprietăților chimice	1	2	4	6
17.	Masă de laborator pentru examenul proprietăților fizice	1	2	4	6
18.	Masă de lucru	1	2	4	6
19.	Masă mobilă cu sertare	-	1	3	4
20.	Masă pentru balanțe	-	1	2	3
21.	Masă pentru primirea și înregistrarea bonurilor de cerere a examenelor de laborator	1	1	2	2
22.	Scaune	5	10	20	25
23.	Stelaj pentru uscare	-	1	1	1
24.	Suport pentru spălarea și uscarea veselei de laborator	-	1	2	2

25.	Taburet de laborator cu picioare	2	5	10	15
26.	Taburet de laborator cu rotițe	2	5	15	20

Notă:

* Doar în cazul dacă există specialiștii, cabinetele și secțiile corespunzătoare

** După necesitate

^ Indice de perspectivă

B. Serviciul spitalicesc

Nr. D/o	DENUMIREA UTILAJULUI	Numărul utilajului în dependență de numărul populației deservite			
		Spitale raionale		Spitale munici-pale	Instituții republicane
		Până la 80 mii locuitori	Mai mult de 80 mii locuitori		
1	2	3	4	5	6
	Aparate și dispozitive				
1.	Computer dotat cu programe	1^	1^	1^	10
2.	Detergenți, soluții dezinfectante, litri	500	800	800	1000
3.	Sisteme de unică folosință pt. colectarea materialului biologic (sânge, urină, spută, materii fecale etc.) mii unități	35	75	80	150
4.	Trusă de prim-ajutor pentru acordarea primului ajutor medical	5	2	8	10
5.	Ustensile pentru protecția muncii în complet: flacon pentru spălat ochii; mască antipraf; ochelari de protecție; mască de protecție; mănuși pentru laborator, halate medicale (set)	5	8	8	12
	A. INVESTIGAȚII CLINICE GENERALE, HEMATOLOGICE, CITOLOGICE ȘI IMUNOLOGICE				
1.	Analizor hematologic automat	1	1	2	2
2.	Analizor hematologic semiautomat	2	3	3	6
3.	Analizor imunoenzimatic automat în complet cu spălătorul, incubatorul și agitatorul pentru plăci cu godeuri	-	1	2	2
4.	Analizor imunoenzimatic semiautomat în complect cu spălătorul, incubatorul și agitatorul pentru plăci cu godeuri	1	1	1	2
5.	Analizor multicomponent automat al urinei pentru citirea stripurilor diagnostice	2	3	3	4
6.	Analizor pentru dozarea hemoglobinei A_{1c} automat	-	-	1	1
7.	Analizor pentru numărarea formulei leucocitare	1	1	2	1
8.	Aparat sau dispozitiv automat pentru fixarea și colorarea frotiurilor de sânge	1	1	2	4

9.	Aparat pentru coagularea şi inactivarea serului	1	1	1	1
10.	Aparat pentru inactivarea serului	1	1	1	1
11.	Arhivă de micropreparate	1	1	1	2
12.	Camere de numerare pt. microscopie Goreaev	10	12	12	24
13.	Camere de numerare pt.microscopie Fux-Rozental	5	10	10	20
14.	Centrifugă de laborator de masă pentru eprubete cu sânge şi urină	5	7	8	10
15.	Centrifugă pentru pregătirea preparatelor citologice	1	1	1	1
16.	Complet automatizat pentru analiza hemiluminiscentă şi fluorescentă*	-	-	-	1^
17.	Complet de dispozitive pentru prepararea probelor la examinarea coprologică	1	1	1	2
18.	Dispozitiv automat pentru colorarea preparatelor citologice	-	1^	1^	1
19.	Dispozitiv manual pentru fixarea şi colorarea frotiurilor de sânge	5	5	5	5
20.	Dispozitiv pentru determinarea VSH	5	10	10	20
21.	Flow-citometru	-	-	1^	1
22.	Fotometru cu reflexie pentru citirea stripurilor diagnostice	1	1	1	1
23.	Hemocalculator (calculator electronic ptr numărarea formulei leucocitare)	8	12	12	20
24.	Hemocalculator automat	2	2	4	4
25.	Hemocitometru conductometric (eritrocite, leucocite)	2	2	3	3
26.	Hemoglobinometru fotoelectric portativ	4	4	4	4
27.	Ionometru pH-metru de laborator	1	1	1	2
28.	Loc de lucru automatizat pentru medicul imunocitolog	-	-	1	1
29.	Microscop conectat la computer şi camera video pentru morfometrie	-	1^	1	1
30.	Microscop cu fluoriscenţă	-	-	1	1
31.	Microscop de laborator binocular cu imersie, iluminator şi dispozitiv pentru obţinerea contrastului de fază	8	12	12	18
32.	Minicentrifugă pentru determinarea hematocritului	1	2	2	2
33.	Minicentrifugă pt. eprubete de tip Eppendorf	1	2	2	3
34.	Trusă pentru colectarea probelor de sânge în staţionar şi la domiciliu	1	3	5	10
35.	Urometre	10	15	15	20
	B. INVESTIGAŢII BIOCHIMICE				
1.	Analizor biochimic automat multicanal cu productivitatea peste 300 an/h	-	-	1	1
2.	Analizor semiautomat multicanal pentru analize biochimice şi imuno-turbidimetrice	1	1	2	2

3.	Analizor biochimic programabil monocanal cu cuvă curgătoare şi de unică folosinţă cu termostatare cu productivitatea de până la 60 an/h	2	2	2	2
4.	Analizor fotometric al bilirubinei neonatale	1	1	1	2
5.	Analizor ionselectiv pentru dozarea elecrtoliţilor: Na,K, Ca, Cl, Mg, Li	1	2	2	3
6.	Analizor pentru dozarea aminelor biogene	-	1^	1	1
7.	Analizor pentru dozarea catecolaminelor în urină	-	1^	1	1
8.	Analizor pentru dozarea glucozei prin metoda expres	1	2	2	3
9.	Analizor şi utilaj pentru cercetări imunofluorescente şi hemiluminiscente	-	-	-	1
10.	Aparat pentru electroforeză în complet cu densitometru cu laser	1^	1	1	1
11.	Complet ptr. cromatografia în strat subţire*	-	-	-	1^
12.	Complet şi dispozitive pt. analiza imunoradiometrică şi radiometrică	-	-	-	1
13.	Cromatograf pentru cromatografia de înaltă eficienţă în lichid*	-	-	-	1
14.	Cromatograf cu gaze*	-	-	-	1
15.	Fotometru automat pt.citirea densităţii optice în plăci cu godeuri	1	1	1	1
16.	Fotometru programabil cu cuvă curgătoare şi cuve de unică folosinţă cu termostatare (pentru laboratoare medii şi mici)	1	1	1	1
17.	Fotometru cu reflexie automat pentru citirea stripurilor diagnostice (10 parametri al analizei urinei)	1	2	2	2
18.	Miliosmometru	-	1	1	2
19.	Minicentrifugă pentru eprubete de tip Eppendorf	-	2	2	3
20.	Sistema de electroforeză computerizată*	-	1	1	1
21.	Spectrofluorometru*	-	-	-	1
22.	Spectrofotometru cu absorbtie atomică*	-	-	-	1
23.	Spectrofotometru cu domeniul spectral 190 – 1000 nm dublu fascicol	-	1	1	1
24.	Trusă pentru colectarea probelor de sânge pentru analizele biochimice	5	6	8	20
	C. CERCETĂRI ALE SISTEMULUI DE HEMOSTAZĂ				
1.	Analizor al agregării trombocitelor	-	1	1	1
2.	Analizor al trombocitelor cu laser*	-	-	-	1
3.	Analizor fotometric tip "flow cell"	-	1	1	2
4.	Coagulometru semiautomat	1	1	1	2
5.	Coagulometru automat cu multe canale cu computer	-	-	1	1
6.	Cronometru temporizator (taimer) cu 5 canale	1	1	1	1

7.	Electrocoagulograf	-	1	1	1
8.	Loc de lucru automatizat pentru medicul hemostaziolog	-	-	1^	1^
9.	Termostat cu pereți transparenți pentru determinarea parametrilor hemostazei	1	1	3	4
	D. INVESTIGAȚII ÎN BIOLOGIA MOLECULARĂ ȘI GENETICA MEDICALĂ				
1.	ADN – amplificator *	-	1^	1	1
2.	Analizor automat pentru reacția de polimerizare în lanț (PCR)*	-	1^	1	1
3.	Aparat pentru puls-electroforeza ADN *	-	1^	1	1
4.	Aparat pt.scuturare tip "Vortex"*	-	1^	1	1
5.	Centrifugă de masă cu răcire pt. eprubete tip Eppendorf până la 20 000 g*	-	1^	1	1
6.	CO2 – incubator*	-	1^	1	2
7.	Dulap steril cu șuvoi de aer laminar*	-	1^	1	1
8.	Pipete digitale mecanice sau electronice monocanal pt. PCR cu volumul variabil 0,5 – 25 mkl, 20 – 200 mkl*	-	1^	1	1
9.	Sistema pt. electroforeză în gel în complet cu camera, suport de gel, bloc de alimentare etc.)*	-	1^	1	1
10.	Transiluminator cu ultraviolet	-	1^	1	1
	E. INVESTIGAȚII MICROBIOLOGICE				
1.	Aglutinoscop	-	-	-	1
2.	Analizor microbiologic automat în set cu test-sisteme	-	-	-	1
3.	Analizor și dispozitive pentru cercetări imunoenzimatice	-	-	-	1
4.	Anaerostat	-	-	-	2
5.	Ansă pentru cercetări microbiologice	-	-	-	20
6.	Aparat de măsurat tip Florinsky pentru cercetări serologice (complet)	2	4	4	6
7.	Aparat sau dispozitiv pt. fixarea și colorarea frotiurilor pe lame	4	6	6	2
8.	Aparat pentru coagularea și inactivarea serului	-	-	-	2
9.	Aparat pentru defibfinizarea plasmei	1	1	1	1
10.	Aparat pentru analiza bacteriologică a aerului	-	1	1	2
11.	Aparat pentru recoltarea probelor de aer	1	1	1	2
12.	Aparat semiautomat pentru dozarea mediilor de cultură	1	1	1	1
13.	$C0_2$ – incubator pentru lucrul cu culturi*	-	-	-	1
14.	Cromatograf cu gaz în complect cu detector cu flacără ionizant	-	-	-	1
15.	Dispensor pentru discuri îmbibate cu antibiotice	-	1	1	2
16.	Dispozitiv automat pentru numărarea coloniilor de bacterii	-	-	-	1

17.	Dispozitiv pentru numărarea coloniilor de bacterii	1	1	1	1
18.	Dulap steril cu şuvoi de aer laminar	-	-	-	1^
19.	Lampă UV pentru dezinfecţie aerului	1	1	1	2
20.	Ionometru pH-metru de laborator	1	1	1	1
21.	Loc de lucru automatizat pentru medicul bacteriolog	-	-	-	2
22.	Lupă binoculară	1	2	2	2
23.	Lupă de mână	1	1	1	2
24.	Microscop binocular cu imersie, iluminator şi condensor cu câmp întunecat	1	2	3	4
25.	Microscop stereoscopic	1	1	1	1
26.	Microscop cu fluorescenţă	-	-	1	1
27.	Pipete digitale mecanice sau electronice monocanal cu volumul variabil 5-1000 mkl în set	1	1	1	3
28.	Pipete digitale mecanice sau electronice cu 8 canale cu volumul variabil 5-50 mkl, 50-250 mkl	1	1	1	3
29.	Agitator magnetic	-	-	1	1
30.	Sistema semiautomată pentru cercetări microbiologice	-	-	-	1
31.	Ustensile pt.microbiologie:plăci pt.microtitrare, plăci şi vase pt.culturi, cutii Petri, pipete Pasteur, ace şi anse pt. însămânţări, folie de protecţie "Parafilm", pare pt. pipetare etc (set)	1	1	1	2
	F. INVESTIGAŢIILE URGENTE DE LABORATOR ÎN SECŢIILE DE REANIMARE ŞI TERAPIE INTENSIVĂ				
1.	Analizor biochimic cu cuvă curgătoare sau de unică folosinţă şi termostatare	1	1	1	2
2.	Analizor al echilibrului acido-bazic	1	1	1	2
3.	Analizor ionselectiv pentru dozarea componenţei electrolitice	1	1	1	1
4.	Analizor multicomponent al urinei automatizat	1	1	1	1
5.	Camera de numărare pt. microscopie tip Goreaev	5	10	15	20
6.	Coagulometru semiautomat	1	1	1	1
7. 8.	Cronometru – temporizator (taimer) cu mai multe canale	1	1	1	1
9.	Dispozitiv pentru fixarea şi colorarea frotiurilor de sânge	1	1	1	2
10.	Dispozitiv pentru determinarea VSH	1	1	2	6
11.	Fotometru pentru citirea stripurilor diagnostice	1	2	2	2
12.	Hemoglobinometru fotometric portativ	2	1	2	2
13.	Hemoviscozimetru pentru determinarea viscozităţii sângelui	1	1	1	1
14.	Microscop binocular cu imersie şi iluminator	1	2	4	6

15.	Miliosmometru	-	1	1	1
16.	Minicentrifugă de laborator pt.determinarea hematocritului	1	1	1	1
17.	Termostat cu pereți transparenți pentru determinarea parametrilor hemostazei	1	1	2	2
18.	Hemocitometru conductometric pt.numerarea eritrocitelor, leucocitelor	1	1	1	1
	F. INSTRUMENTAR MEDICAL				
1.	Ace pentru prelevarea sângelui (mii)	20	40	40	80
2.	Bisturiu cu vârful eficat	2	4	4	6
3.	Cleme pentru tuburi elastice	15	25	25	30
4.	Cornțang cu brațe drepte	4	4	4	6
5.	Foarfece chirurgical cu vârfurile boante	4	6	6	10
6.	Lancetă-scarificator de o singură folosință (mii)	5	10	10	50
7.	Lupă binoculară	1	1	1	2
8.	Pensă anatomică oculară	-	-	-	5
9.	Pensă anatomică (mărimi diferite)	4	8	12	20
10.	Pensă chirurgicală (mărimi diferite)	5	10	10	20
11.	Pensă oculară chirurgicală (set)	-	-	-	1
12.	Scarificator pentru prelevarea sângelui prin metoda fără contact	1	1	1	2
13.	Seringi cu ac de unică folosință sterile de la 1 până la 10 ml (mii)	20	40	40	80
14.	Spatulă medicală de unică folosință (mii)	2	3	3	5
15.	Spatulă medicală de metal inox	20	30	30	60
	H. ARTICOLE ȘI OBIECTE DE UZ GENERAL				
1.	Acvadistilator	1	1	2	4
2.	Agitator magnetic cu încălzire	1	2	2	2
3.	Agitator magnetic fără încălzire	1	1	1	1
4.	Aparat pentru bidistilarea apei	-	-	-	2
5.	Aparat pentru obținerea apei deionizate	1	1	1	1
6.	Aparat sau dispozitiv pentru fixarea și colorarea frotiurilor de sânge pe lame	2	3	3	4
7.	Aparat universal pentru scuturare	1	1	2	4
8.	Areometre (complet)	1	1	1	2
9.	Areometre pentru determinarea densității acizilor (complet)	1	1	1	2
10.	Autoclav	1	1	1	2
11.	Baie de apă de laborator electrică	2	2	3	5
12.	Baie de nisip	2	2	2	3
13.	Balanță pentru echilibrarea eprubetelor de centrifugare	1	1	2	4
14.	Balanță analitică electronică cu rezoluția de 0,1 mg	1	1	1	2
15.	Balanță cu torsiune cu capacitatea de 500 mg și 1000 mg	2	4	4	4
16.	Balanță de laborator cu rezoluția de 1 mg	2	3	3	2
17.	Balanță de laborator electronică	2	2	2	6
18.	Cameră de uscat prin liofilizare	-	-	-	1

19.	Cameră de uscat cu vacuum	-	-	-	1
20.	Ceas cu nisip	8	15	15	20
21.	Ceas temporizator (taimer)	4	8	8	12
22.	Centrifugă de laborator de masă multifuncțională cu răcire	-	1^	1	2
23.	Centrifugă de laborator clinic	4	6	6	8
24.	Centrifugă de laborator cu multe cupe	2	3	3	4
25.	Condensor de câmp întunecat	-	1	1	3
26.	Cronometru – secundometru	8	12	12	20
27.	Cutie rotundă pentru sterilizare	3	5	5	10
28.	Cutii de păstrare lame pentru metode citologice (25, 50, 100 lame)	15	18	18	20
29.	Dispozitiv pentru perforarea dopurilor	1	1	1	2
30.	Dispozitiv pentru pregătirea dopurilor de vată	1	1	1	1
31.	Dozatoare automate pentru lucrul cu medii agresive	1	1	1	2
32.	Dozatoare de pipetare de laborator cu volum de diferită capacitate (complet)	6	10	10	18
33.	Dozator diluter automat cu microprocesor cu programare și capacitate de dozare până la 5000 mkl	2	4	4	6
34.	Dulap (nișă) de ventilare	2	4	4	6
35.	Etuve universale pentru uscare și sterilizare cu limitele de temperatură de la 55 până la 200 ^{0}C	4	6	6	10
36.	Fierbător electric	2	2	2	2
37.	Filtre de hârtie (discuri) de diferite dimensiuni (100)	50	100	100	200
38.	Frigider cu congelator până la –20 ^{0}C	2	3	3	6
39.	Frigider electric obișnuit	6	8	8	10
40.	Greutăți de calibrare balanțe (set)	1	2	2	4
41.	Hârtie cromatografică*	-	-	-	5 kg
42.	Hârtie de filtru (kg)	10	15	15	30
43.	Spirtieră	4	6	6	12
44.	Lupă de mână	3	3	3	6
45.	Obiectiv-micrometru	1	1	1	2
46.	Ocular de prezentare	-	-	-	2
47.	Ocular-micrometru	1	1	1	4
48.	Microscop de prezentate	-	-	-	2
49.	Pipete digitale mecanice sau electronice monocanal cu volumul variabil 5-1000 mkl (complect)	4	6	6	10
50.	Pipete digitale mecanice sau electronice cu 8 canale cu volumul variabil 5-50 mkl, 50-250 mkl (set)	2	4	4	8
51.	Planșete pentru păstrarea lamelor	20	50	50	100
52.	Plăci pentru determinarea grupelor de sânge, factorului Rhesus	12	20	20	50
53.	Plăci de o singură folosință cu 96 godeuri pentru reacții imunologice	8	12	15	20

54.	Plăci pentru biochimie (standarde și modificate)	20	50	50	100
55.	Plăci pentru culturi tisulare cu 4 godeuri	-	1^	1^	20
56.	PH-metru de laborator	1	2	2	4
57.	Pompă cu vid (cu apă sau ulei)	1	2	2	2
58.	Refrigerator autonom portativ	1	2	2	4
59.	Agitator de laborator	1	2	2	4
60.	Sistem pentru obținerea apei deionizate	1	2	2	3
61.	Spălător automat pentru analiza imunoenzimatică	1	2	2	3
62.	Spălător semiautomatl pentru analiza imunoenzimatică	1	1	1	2
63.	Spălător pentru microplanșete	1	1	1	2
64.	Autoclav	1	1	1	2
65.	Sterilizator cu aer cald	2	2	2	4
66.	Termometru de laborator	5	8	8	12
67.	Termometru medical	5	8	8	10
68.	Termostat bacteriologic tip TPC-100	-	1	1	2
69.	Termostat electric	2	4	4	6
70.	Termostat pentru plăci cu 96 godeuri	1	2	2	2
71.	Termostat pentru turnarea parafinei	-	1	1	2
72.	Umidometru, barometru și termometru (dispozitiv de perete cu trei funcții pt. determinarea umidității, presiunii și temperaturii în încăperi).	3	5	5	8
73.	Ustensile din plastic de unică folosință pt. laboratoare clinice (stative, suporturi pt. tuburi de test, tuburi de centrifugare etc) (set)	30	60	60	80
74.	Ustensile metalice de laborator (stative, mufe, cleme, stative pt. eprubete, linguri dozatoare, spatule, pensete, clești, trompe de apă etc.). (set)	10	20	20	40
Echipament de laborator din sticlă și plastic					
1.	Baloane conice de diferite dimensiuni	15	25	25	100
2.	Baloane cotate de diferite dimensiuni	15	25	25	50
3.	Baloane cu fundul plat de diferite dimensiuni	20	50	50	100
4.	Bastonașe de sticlă (mii)	10	15	15	30
5.	Biurete cu gradații Mohr	-	**	**	**
6.	Biurete cu gradații și robinet	-	**	**	**
7.	Borcan cu capac cu capacitatea 1,5 L și 5 L	-	**	**	**
8.	Borcane pentru păstrarea bio-preparatelor cu volumul 50, 100, 250 ml (set)	-	**	**	**
9.	Capilar Pancenko (pentru VSH) (mii)	10	20	20	50
10.	Capilar pentru hematocrit (mii)	10	20	20	60
11.	Capilar Sahli	30	50	50	80
12.	Cilindri gradați de diferite dimensiuni	6	10	10	30
13.	Cilindri pentru soluții fără gradații, 250 ml	6	10	10	15

14.	Cratițe de diferite dimensiuni	-	**	**	**
15.	Creioane pentru sticlă și porțelan (roșu și albastru)	30	50	50	300
16.	Cutii Petri	100	200	200	500
17.	Cuve de polistirol de unică folosință pentru fotometre (mii)	20	30	30	40
18.	Eprubete biologice, Florinski, Can, Vidal etc. (mii)	20	40	40	100
19.	Eprubete chimice (diferite) (mii)	40	60	60	100
20.	Eprubete din masă plastică cu capac sterile (3 ml, 5 ml, 14 ml, 50 ml), mii	100	150	150	300
21.	Eprubete gradate conice 10, 20 ml (mii)	50	80	800	100
22.	Eprubete pentru centrifugare fără gradații (mii)	100	150	150	200
23.	Eprubete pentru centrifugare gradate (mii)	50	80	80	100
24.	Exicator cu capac și robinet	4	6	6	10
25.	Fiole de cântărire (set)	10	12	12	20
26.	Flacoane din polietilenă 125 ml (mii)	2	3	3	5
27.	Flacoane pentru păstrarea mediilor de cultură	40	60	60	100
28.	Flacoane pentru sânge 50, 100, 250, 450 ml	-	**	**	**
29.	Lame (mii)	100	150	150	300
30.	Lamele (mii)	100	150	150	300
31.	Microeprubete de 1,5 ml din plastic cu capac de unică folosință (mii)	100	150	150	300
32.	Pahare cotate de diferite dimensiuni	5	10	10	40
33.	Pahare de laborator Berzelius de diferite dimensiuni	-	**	**	**
34.	Pahare de laborator gradate și fără gradații	25	30	30	50
35.	Pahare de laborator Grifin de diferite dimensiuni	-	**	**	**
36.	Pahare de porțelan de diferite dimensiuni	20	40	40	80
37.	Pâlnii de separare (50, 100, 250 ml)	20	50	50	80
38.	Pară de cauciuc pentru pipete	10	20	20	30
39.	Picurătoare	20	30	30	50
40.	Pipetă Pasteur (mii)	10	15	15	20
41.	Pipete gradate de diferite dimensiuni	100	150	150	300
42.	Piuliță de porțelan cu pisălog	6	10	10	15
43.	Piuliță de porțelan pentru evaporare	3	10	10	30
44.	Tava semiovală	-	**	**	**
45.	Tuburi de sticlă (mii)	1	2	2	5
46.	Tuburi din cauciuc și silicon de diferite dimensiuni (kg)	10	20	20	30
Seturi de reactivi, test sisteme, reagenți de laborator (clinica generală, hematologia, biochimia, citologia, imunologia, microbiologia)					
1.	Colorant azur-eozină Romanovski-Giemza, praf (kg)	1,0	2,0	2,0	5,0
2.	Colorant azur-eozină Romanovski-Giemza, soluție (litri)	30	50	50	70

3.	Colorant eozină albastru de metilen Leischman, (litri)	20	30	30	70
4.	Colorant eozină albastru de metilen May-Grundwald, litri	30	50	50	70
5.	Set de acizi pentru laboratoarele de diagnostic clinic	**	**	**	**
6.	Set de rechizite pentru cromatografia în lichid*	1	3	3	5
7.	Set de rechizite pentru cromatografia în strat subțire*	1	3	3	5
8.	Set de materiale de control şi calibratori	20	40	40	50
9.	Set de reagenți pentru cercetarea sistemului de hemostază	30	50	50	60
10.	Set de reagenți pentru depistarea sângelui ocult (materii fecale, urină, etc.)	20	35	40	50
11.	Set de reagenți pentru depistarea ADN HVB, HVC prin metoda PCR	-	-	-	20
12.	Set de reagenți pentru depistarea ADN citomegalovirusului prin metoda PCR	-	-	-	20
13.	Set de reagenți pentru depistarea ADN clamidiilor, ureaplasmelor şi micoplasmelor	-	-	-	10
14.	Set de reagenți pt.diagnosticul hormonal al maladiilor: hormonilor tiroidieni, paratiroidieni, hipotalamo-hipofizari, pancreasului, suprarenalelor, sexuali, etc. (96 godeuri)	25	50	50	100
15.	Set de reagenți pentru diagnosticul serologic al sifilisului	10	20	20	50
16.	Set de reagenți pt.dozarea marcherilor tumorali: AFP, PSA. CA 15-3, CA 125, CA 19-9, feritinei etc (96 godeuri)	15	25	25	50
17.	Set de reagenți pentru dozarea biliribinei şi fracțiilor ei în serul sanguin (250 ml)	20	30	30	100
18.	Set de reagenți pentru dozarea componentelor sistemului complement: C3, C4, factorului properdinic beta, C1 inhibitorului esterazei, etc	2	6	8	10
19.	Set de reagenți pt. dozarea electroliților şi micro-elementelor: Na, K, CI, P, Mg, I, Zn, Cu, Fe, etc. (150 ml)	30	40	40	100
20.	Set de reagenți pentru dozarea hemoglobinei în sânge (1000 ml)	100	150	150	300
21.	Set de reagenți pentru dozarea imunoglobulinelor A,G,M, etc (150 ml)	8	16	16	30
22.	Set de reagenți pentru dozarea microproteinuriei, microalbuminuriei (500 ml)	8	15	15	20

23.	Set de reagenţi pentru dozarea proteinelor fazei acute a inflamaţiei: proteina-C reactantă, alfa-1-glicoproteina acidă, alfa-1-antitripsina, alfa-2-macroglobulina, haptoglobina, ceruloplasmina, factorul reumatoid, fibrinogenul, etc. (5 ml)	25	40	40	60
24.	Set de reagenţi pt.analiza imunoenzimatică (96 godeuri)	20	35	35	80
25.	Set de reagenţi pentru cercetarea metabolismului proteic şi azotat: dozarea proteinei totale după Lowry, metoda biuret, cu roşu de pirogalol, dozarea albuminei, ureei, creatininei, acidului uric etc. (1000 ml)	20	40	40	60
26.	Set de reagenţi pt. cercetarea metabolismului glucidic: dozarea glucozei prin metoda glucozoxidazică şi hexokinazică, fructozaminei, hemoglobinei A_{1c}, acidului lactic, piruvic, sialic, seromucoizilor, etc (1000 ml)	15	20	20	36
27.	Set de reagenţi pt. cercetarea metabolismului lipidic: dozarea colesterolului total, colesterolului-LDL şi HDL, lipidelor totale, trigliceridelor, fosfolipidelor, beta-lipoproteidelor, lipoproteinei A, etc (500 ml)	10	15	15	30
28.	Set de reagenţi pt. diagnosticul enzimatic al maladiilor: dozarea fosfatazei acide şi alcaline, ALAT, ASAT, gama-GPT, GDH, LDH, PCE, HBDH, CFK, lipazei totale şi pancreatice, amilazei, etc. (1000 ml)	20	30	30	50
29.	Set-standard de hemoglobincianidă	10	15	15	25
30.	Discuri cu antibiotice (complet)	100	200	300	600
31.	Material de control atestat pentru lichidul cefalorahidian (10 ml)	5	8	8	12
32.	Material de control atestat pentru monitoringul proteinelor fazei acute a inflamaţiei (10 ml)	5	8	8	12
33.	Material de control atestat pentru monitoringul cardiomarcherilor (10 ml)	3	5	5	10
34.	Material de control atestat pentru monitoringul diabetului zaharat (10 ml)	5	8	8	10
35.	Material de control atestat pentru monitoringul hormonilor (10 ml)	5	8	8	12
36.	Material de control atestat pentru monitoringul oncomarcherilor (10 ml)	3	5	5	10
37.	Material de control atestat pentru monitoringul metodelor de analiză a urinei (10 ml)	12	18	18	24
38.	Material de control atestat pentru monitoringul parametrilor imunologici şi medicamentelor (10 ml)	10	15	15	20

39.	Material de control atestat pentru monitoringul spectrului lipidic (10 ml)	5	8	8	12
40.	Material de control atestat și neatestat pentru cercetări biochimice (10 ml)	8	10	12	24
41.	Mecanism pentru echilibrarea eprubetelor de centrifugare	1	2	2	4
42.	Medii nutritive Giss (cu manitol, zaharoză, lactoză, glucoză), set	-	10	20	40
43.	Medii nutritive și baze, set	-	10	20	40
44.	Medii nutritive uscate	-	15	25	50
45.	Reactivi chimici (acizi, baze, săruri, coloranți, indicatori, compuși organici, etc)	**	**	**	**
46.	Seruri diagnostice, anticorpi și antigeni (set)	10	20	20	40
47.	Test-sisteme pentru expres diagnosticul și depistarea bolilor infecțioase (set)	10	15	30	60
48.	Test sisteme imunodiagnostice pentru determinarea subpopulațiilor de limfocite, set	-	-	8	12
49.	Test sisteme imunoenzimatice și eritrocitare, set	-	-	-	20
50.	Teste cromatografice pentru monitoringul diabetului zaharat, set	20	40	60	100
	STRIPURI PENTRU EXPRES-DIAGNOSTICUL MALADIILOR				
1.	Stripuri pentru diagnosticul alergen-specific (set)	100	150	150	300
2.	Stripuri diagnostice pentru determinarea albuminei în materiile fecale (set)	100	150	150	400
3.	Stripuri diagnostice pentru determinarea albuminei în urină(set)	100	150	150	200
4.	Stripuri diagnostice pentru determinarea PH, glucozei, proteinei în urină(set)	100	150	150	500
5.	Stripuri diagnostice pentru determinarea PH, nitriților proteinei și glucozei în urină (set)	100	150	150	1000
6.	Stripuri diagnostice pentru determinarea densității relative, PH, nitriților, glucozei, proteinei, sângelui (eritrocitelor, hemoglobinei) și leucocitelor în urină (set)	200	300	300	500
7.	Stripuri diagnostice pentru determinarea PH, proteinei, glucozei, corpurilor cetonici, urobilinogenului, bilirubinei, leucocitelor, nitriților, sângelui (eritrocitelor, hemoglobinei) în urină (set)	30	50	50	300
8.	Stripuri diagnostice pentru determinarea cantitatică și semicantitativă a urobilinogenului în urină (set)	10	15	15	20
9.	Stripuri diagnostice pentru determinarea leucocitelor în urină (set)	200	500	500	1000
10.	Stripuri diagnostice pentru determinarea nitriților în urină (set)	100	150	150	300

11.	Stripuri diagnostice pentru determinarea sângelui (eritrocitelor, hemoglobinei) în urină (set)	100	500	500	1000
12.	Stripuri diagnostice pentru determinarea proteinei, urobilinogenului, sângelui (eritrocitelor, hemoglobinei) în urină (set)	100	150	150	300
	I. MOBILĂ DE LABORATOR				
1.	Covoraş din cauciuc dielectric	15	20	20	80
2.	Dulap medical pentru haine	3	4	8	10
3.	Dulap cu vitrină	2	3	4	4
4.	Dulap de uscare	1	1	1	2
5.	Dulap pentru aparate	2	3	3	8
6.	Dulap pentru materiale de lucru	2	2	4	6
7.	Dulap pentru medii nutritive pregătite	-	1	1	2
8.	Dulap pentru preparate diagnostice	2	2	3	2
9.	Dulap pentru reactivi chimici	4	5	5	6
10.	Dulap pentru vesela de laborator	5	6	6	8
11.	Masă de laborator cu cuvetă	2	2	2	4
12.	Masă de laborator cu dispozitiv de ventilare	2	2	3	5
13.	Masă de laborator cu picioare	3	5	7	10
14.	Masă de laborator pe roţi	3	5	5	10
15.	Masă de laborator pentru dispozitivul de uscare	2	2	2	4
16.	Masă de laborator pentru examenul proprietăţilor chimice ale materialului biologic	3	4	4	5
17.	Masă de laborator pentru examenul proprietăţilor fizice ale materialului biologic	3	4	4	5
18.	Masă de lucru	3	3	5	8
19.	Masă mobilă cu sertare	2	2	3	4
20.	Masă pentru balanţe	1	1	1	2
21.	Masă pentru primirea şi înregistrarea bonurilor de cerere a examenelor de laborator	2	2	3	4
22.	Scaune	20	25	25	40
23.	Stelaj pentru uscare	1	1	1	4
24.	Suport pentru spălarea şi uscarea veselei de laborator	2	2	2	6
25.	Taburet de laborator cu picioare	10	15	15	30
26.	Taburet de laborator cu rotiţe	10	15	15	20

Notă:

* În cazul dacă există specialiştii, cabinetele şi secţiile corespunzătoare

** După necesitate

^ Indice de perspectivă

CAPITOLUL 6

Regulamentul privind Centrul Teritorial Organizator-Metodic și de control al calității investigațiilor de laborator

1. Centrul teritorial Organizator-metodic şi de Control al Calităţii investigaţiilor de laborator (în continuare - COM şi CC) se organizează în cadrul secţiei de laborator (LDC) al spitalului republican (raional sau municipal) şi se subordonează organului respectiv al Direcţiei Sănătăţii.

2. Structura organizaţională, statele, nivelul de înzestrare şi ordinea finanţării COM şi CC se stabileşte prin ordinul Direcţiei Sănătăţii, ţinând cont de sarcinile îndeplinite.

3. Conducerea nemijlocită a COM şi CC se efectuează de specialistul principal în diagnosticul de laborator al organului respectiv al Direcţiei Sănătăţii.

4. Conducerea metodică a lucrului COM şi CC din teritoriu este efectuată de către Centrul Republican Organizator-Metodic şi de Control Extern al Calităţii a MS RM.

5. În activitatea sa COM şi CC se conduc de documentele normative elaborate de MS RM, organele direcţiilor teritoriale ale sănătăţii şi prezentul regulament.

6. Sarcinile principale ale COM şi CC sunt:

- elaborarea măsurilor pentru dezvoltarea şi perfecţionarea serviciului de laborator din teritoriu;
- dirijarea organizator-metodică a serviciului de laborator şi acordarea ajutorului practic, controlul activităţii LDC ale instituţiilor medico-sanitare;
- însuşirea şi aplicarea largă în practică a metodelor noi de diagnostic de laborator şi a controlului calităţii investigaţiilor de laborator;
- participarea sistematică la acţiunile organizate de Centrul Republican de Control Extern al Calităţii;

7. În conformitate cu sarcinile de bază COM şi CC îndeplineşte următoarele funcţii:

a) acordă ajutor organizator-metodic laboratoarelor:

- la însuşirea şi aplicarea la scară largă în practică a metodelor noi de diagnostic şi a sistemului de măsuri pentru asigurarea calităţii investigaţiilor de laborator;
- la repartizarea raţională şi folosirea efectivă a personalului LDC;
- la însuşirea şi utilizarea raţională a utilajului de laborator şi a aparaturii;

b) elaborează şi, la indicaţiile organelor teritoriale ale Direcţiilor Sănătăţii, efectuează acţiuni privind pregătirea, ridicarea calificării specialiştilor, participă la pregătirea LDC către acreditare şi certificare;

c) efectuează controlul sistematic al activităţii LDC din teritoriu;

d) participă la pregătirea şi desfăşurarea consfătuirilor pentru specialiştii laboratoarelor;

e) participă la elaborarea recomandărilor privind înzestrarea LDC cu echipament şi utilaj de laborator, veselă, reactivi;

f) efectuează analiza anuală a activităţii cadrelor LDC şi înaintează propuneri concrete în privinţa pregătirii şi folosirii lor raţionale;

g) elaborează propuneri pentru centralizarea anumitor tipuri de cercetări de laborator în teritoriul în care activează.

8. Centrul Republican Organizator-Metodic şi de Control Extern al Calităţii în colaborare cu Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, USMF "Nicolae Testemiţanu" şi cu antrenarea specialiştilor de profil din instituţiile sistemului Ministerului Sănătăţii şi Protecţiei Sociale:

- elaborează programe de cercetări ştiinţifice şi măsuri tehnico-organizatorice pentru perfecţionarea controlului de calitate extern al investigaţiilor de laborator;
- completează grupe de experţi din rândurile specialiştilor de anumit profil pentru elaborarea programelor de control extern al calităţii diferitor tipuri (genuri) de examinări de laborator (biochimice, hematologice, imunologice, citologice, de clinică generală, etc.), precum şi a metodelor de pregătire a materialelor de control, principiilor de apreciere a utilităţii acestora;

- elaborează şi prezintă pentru aprobare statutul medicului de laborator responsabil pentru controlul calităţii, reieşind din conţinutul, volumul şi ordinea de efectuare a lucrărilor în acest domeniu de activitate;

- elaborează documentele normative pentru efectuarea controlului extern al calităţii şi determină nomenclatorul testelor supuse controlului de calitate, tipurile materialelor de control, cerinţele metrologice faţă de acestea, frecvenţa şi ordinea efectuării controlului extern, formele de prezentare a rezultatelor, schema calculării costului controlului pentru fiecare tip de cercetări;

- analizează sistematic rezultatelor obţinute şi elaborează recomandări pentru perfecţionarea activităţii laboratoarelor pe baza aprecierii lucrului îndeplinit;

9. COM şi CC are dreptul:

- a obliga şefii de laborator, sau persoanele autorizate, să efectueze sistematic controlul intern (intralaborator) al calităţii explorărilor de laborator conform actelor normative în vigoare;

- a efectua sistematic controlul extern al calităţii în toate laboratoarele, indiferent de forma lor de proprietate;

- de a aprecia calitatea investigaţiilor de laborator după analiza rezultatelor contro-lului de inspecţie al laboratoarelor din teritoriul cu înaintarea măsurilor şi termenelor de înlăturare a neajunsurilor depistate;

- de a face concluzii şi de a analiza eficienţa utilizării cercetărilor de laborator în practica clinică şi de a înainta propuneri privind perfecţionarea lucrului LDC şi colaborarea cu medicii clinicieni;

- de a participa la pregătirea materialelor şi consfătuirile organelor teritoriale ale sănătăţii despre problemele ce prezintă interes pentru serviciul de laborator;

- de a înainta propuneri referitor la perfecţionarea serviciului de laborator, de a efectua expertiza proiectelor, venite în organele teritoriale ale sănătăţii publice.

Structura organizaţională a sistemului controlului de calitate în RM este expusă în tabelul 6.1

Tabel 6.1

Structura organizaţională a sistemului controlului de calitate în RM

Nivelul de organizare	Sarcina de bază
Nivelul I (republican) Centrul Republican Organizator-Metodic şi de Control Extern al Calităţii investigaţiilor de laborator	Controlul extern al Calităţii
Nivelul II (raional, municipal) Centrul teritorial Organizator-Metodic şi de Control al Calităţii investigaţiilor de laborator de pe lângă LDC (secţia de laborator) din serviciul asistenţă specializată de ambulator şi serviciul spitalicesc (spitale raionale, municipale)	Controlul interlaborator al calităţii
Nivelul III (instituţional) Laboratoarele de diagnostic clinic din serviciul asistenţă medicală primară, asistenţă specializată de ambulator şi serviciul spitalicesc (spitale raionale, municipale, republicane)	Controlul intralaborator (intern) al calităţii

CAPITOLUL 7

Indicații metodice pentru realizarea controlului de calitate al activității laboratoarelor de diagnostic clinic

Una din condițiile obligatorii ale explorărilor diagnostice de laborator este obținerea rezultatelor exacte și veridice, ce se poate atinge datorită efectuării controlului calității lucrului laboratoarelor.

La efectuarea controlului calității lucrului laboratoarelor, referitor la rezultatele investigațiilor de laborator, se folosește un șir de criterii, stabilite de STAS 16263-70 «Sistemul de stat de asigurare a unității măsurărilor. Metrologia. Termenii și noțiunile».

Exactitatea (accuracy) este calitatea măsurărilor, care reflectă apropierea rezultatelor acestora de valorile adevarate ale mărimilor determinate. Acuratețea (exactitatea) înaltă a măsurărilor corespunde erorilor mici de orice tip, atât sistematice, cât și întâmplătoare.

Precizia (precision) exprimă apropierea rezultatelor măsurărilor, care reflectă apropierea una față de alta a rezultatelor determinărilor efectuate în aceleași condiții.

Reproductibilitatea măsurărilor (reproductibility) - calitatea măsurărilor, care reflectă apropierea una față de alta a rezultatelor măsurărilor, îndeplinite sau efectuate în condiții diferite (timp diferit, în locuri diferite, prin metode diferite).

Corectitudinea măsurărilor (correctness) - calitatea lor, care reflectă apropierea de zero a erorilor sistematice ale rezultatelor măsuratorilor.

Erorile sistematice sunt cauzate de un factor constant care influențează în mod constant măsurătorile într-o anumită direcție.

Materiale de control

Principalele materiale de control sunt:

a) materiale de control fabricate la întreprinderi cu conținut cunoscut sau necunoscut al componenților (ser liofilizat, controlul urinar). Materialul de control cu conținut necunoscut al componenților este un material căruia îi sunt caracteristice stabilitatea componenților în timpul păstrării. Materialul de control cu conținut cunoscut cu valorile nominalizate - este un material căruia i se înaintează aceleași cerințe ca și mostrelor standard, prevăzute de STAS 14263-69.

b) soluții standard apoase;

c) ser amestecat colectat în laborator.

Metodele de pregătire a serului colectat amestecat

Reziduurile de ser rămas în laborator după efectuarea analizelor, cu excepția serurilor pacienților cu boli contagioase, hemolizate, icterice și care conțin lipide, se colectează într-un vas cu volumul de 2 L și se păstrează în congelator la t –20°C. Când se va acumula cantitatea necesară (1-2 L) conținutul vasului dat se dezgheață la baia de apa la t 37°C și se amestecă minuțios. Apoi serul se filtrează prin filtre bacteriologice sterile și se transferă în flaconașe de 3-5 ml. Flaconașele bine închise se păstrează în congelator la t –20°C. Serul astfel pregatit se poate folosi zilnic pentru controlul preciziei și reproductibilității cercetărilor de laborator.

Conținutul componenților acestui ser sunt stabili timp de un an.

Controlul preciziei și reproductibilității se efectuează la fel și cu ajutorul serurilor de con-trol cu conținut necunoscut fabricate pe cale industrială la uzine.

Controlul corectitudinii se efectuează și cu ajutorul serurilor de control fabricate cu conținutul stabilit (nominalizat). Efectuarea controlului corectitudinii cu ajutorul soluțiilor apoase standard este mai puțin precisă.

Ordinea efectuării controlului intern (intra-laborator) al calității

Controlul intra-laborator al calității include controlul preciziei, reproductibilității și corectitudinii.

Zilnic lucrătorii laboratorului (laborantul, medicul de laborator) în timpul efectuării diferitor analize biochimice a sângelui, paralel cu probele de cercetat, cercetează materialul de control (ser fabricat pentru control cu conţinut necunoscut sau ser amestecat de control pregătit în laborator).

Dacă pentru control se foloseşte serul de control fabricat pe cale industrială atunci în fiola dată se introduce cantitatea exactă de apă distilată indicată pe etichetă, apoi fiola se roteşte încet până când conţinutul uscat din fiolă se umectifică şi se lasă ca conţinutul fiolei să se dizolve. Nemijlocit înainte de utilizare conţinutul fiolei se agită atent, minuţios, evitând formarea spumei la suprafaţă.

Practic controlul trebuie să includă fiecare parametru de laborator, rezultatul căruia are caracter cantitativ. Determinarea componenţilor biochimici (de exemplu: glucoza, ureea, proteina totală, etc) în materialul de control se efectuează concomitent cu probele de analizat, în loc de ser se ia material de control în aceeaşi cantitate.

Determinarea fiecărui component se efectuează după metoda, care se foloseşte în laboratorul dat, însă dacă metoda este standardizată, atunci ea se efectuează conform «Indicaţiilor metodice pentru folosirea metodelor unificate (standardizate)". Rezultatele se înregistrează zilnic. Pentru o mai mare exactitate, timp de 20 zile se efectuează câte 2 determinări paralele a fiecărui component în materialul de control. Apoi se calculează media aritmetică a acestor 2 determinări paralele. Dacă un rezultat diferă cu mult de cel precedent, aceasta se consideră o eroare grosolană.

Pentru controlul greşelilor grosolane se foloseşte criteriul T. Astfel de rezultat se calculează pentru cele mai dubioase valori aparte din şirul de analize după formula:

$$T = \frac{X_n - \overline{X}}{S}, \text{ când } X_n > \overline{X}$$

Pentru valoarea cea mai mică a rezultatului în parte Xi a unui şir de analize se calculează după formula:

$$T = \frac{\overline{X} - Xi}{S}$$

Limita siguranţei T depinde de probabilitatea erorii stabilite ? şi de numărul «n» a rezul-tatelor separate. Pentru ?= 5% şi n = 10 ea constituie 2,29; pentru n=20 şi ?=5%, ea este egală cu 2,62. Din 20 rezultate zilnice se calculează valoarea medie:

$$\overline{X} = \frac{\sum X}{n},$$

unde: $\overline{X}$ - valoarea medie aritmetică din 20 de determinări;
X - rezultatul determinărilor zilnice;
$\sum$ - semnul «suma»; n - numărul măsurărilor (in cazul dat 20).

Devierea medie pătratică S:

$$S = \sqrt{\frac{(\overline{X} - X)^2}{n-1}},$$

unde: $(\overline{X} - X)^2$ - devierea fiecărei din 20 măsurări de la valoarea mediei aritmetice.

Pe harta de control (se poate de folosit hârtia milimetrică) se alege orice diapazon potrivit pentru lucru şi se depune valoarea medie $\overline{X}$ şi apoi mai sus şi mai jos de valoarea medie se depun mărimile $\pm 2S$.

Harta de control se pregăteşte pentru fiecare substanţă.

Abaterea medie pătratică dublă $\pm 2S$ - se consideră limita exactităţii analizei.

La determinarea limitelor valorii permise S se poate folosi criteriul Tonx sau limita permisa a erorii *LAE* care se calculează după formula:

$$LAE = \frac{1/4(\textit{diapazonul regiunii normale})}{\textit{marimea medie a regiunii normale}} \times 100$$

Pentru caracteristica controlului preciziei şi reproductibilităţii se foloseşte coeficientul de variaţie V:

$$V = \frac{S}{\overline{X}} \times 100\%$$

Cu cât coeficientul de variaţie e mai mic cu atât precizia şi reproductibilitatea e mai înaltă. În aşa fel rezultatele cercetărilor materialului de control efectuate pe parcursul primelor 20 zile se folosesc pentru construirea hărţii de control. Rezultatul cercetărilor materialului de control din zilele următoare se înscriu în harta de control, indicând dată. Aceste rezultate servesc pentru aprecierea reproductibilităţii investigaţiilor de laborator.

Controlul reproductibilităţii trebuie înfăptuit pe tot diapazonul liniar al curbei de etalonare. Aprecierea rezultatelor pe harta de control se poate obţine, ţinând cont de limitele de încredere a erorilor admise, folosind următoarele criterii:

1.Criterii de «preîntimpinăre» sau «avertizare»:

a) 6 rezultate la rând se află pe aceeaşi parte a liniei S;

b) 3 rezultate succesive se află în afara limitei $\pm 1S$;

c) un rezultat se află în afara limitelor $\pm 2S$;

d) 6 rezultate consecutive se află în ascensiune sau descreştere.

2. Criteriile de «control»:

a) 8 rezultate succesive se află pe aceeaşi parte a limitei medici aritmetice;

b) 4-5 rezultate succesive se află în afara limitei $\pm 1S$;

c) 2-3 rezultate succesive se află în afara limitei $\pm 2S$;

d) 1 rezultat se află în afara limitei $\pm 3S$.

Când se obţin rezultate care corespund criteriilor de «avertizare» este necesar de controlat minuţios toate etapele de lucru. Astfel de rezultate se iau în consideraţie.

La obţinerea rezultatelor care corespund criteriilor de «control», aceste rezultate nu se iau în cosideraţie şi se i-au măsuri pentru elucidarea cauzelor erorilor.

La cerinţa şefului laboratorului se poate efectua controlul preciziei. Se cercetează materialul de control de mai multe ori (nu mai puţin de 10 ori) într-o serie şi în aceleaşi condiţii cu calcularea ulterioara a coeficientului de variaţie V şi controlul corectitudinii cu folosirea materialului de control în prealabil cercetat. Cercetarea corectitudinii e oportun de efectuat în condiţiile preciziei înalte a rezultatelor obţinute.

Controlul corectitudinii permite de a efectua analiza mai minuţioasă a rezultatelor căpătate. Controlul preciziei şi corectitudinii se efectuează periodic de către personalul laboratorului (laborant, medici de laborator) în anumite cazuri:

a) dacă rezultatul cercetării materialului de control iese din limita $\pm 2S$;

b) când se foloseşte o metodă nouă;

c) când se folosesc aparate noi de măsurare sau seturi noi de reactivi, etc.

În timpul efectuării controlului corectitudinii executantul nu trebuie să ştie valoarea nominală a componentului cercetat în materialul de control.

Pentru efectuarea controlului corectitudinii, cantitatea precisă de apa distilată indicată pe etichetă fiolei, se transferă în fiola şi se agita până la dizolvarea conţinutului, însă foarte atent, evitând formarea spumei la suprafaţă lichidului.

În serul de control căpătat se identifica componenţii lui (în dependenţă de condiţiile sus numite). Astfel e necesar de efectuat nu mai puţin de 10 cercetări paralele, după indicaţiile metodice, care sunt anexate la serul de control. Aceste date se pot folosi şi la aprecierea preciziei. Controlul preciziei şi corectitudinii trebuie efectuat pe tot diapazonul liniei drepte a curbei etalon. Pentru aceasta se foloseşte serul de control cu conţinut normal şi patologic al componenţilor.

Instrucţiune metodică pentru înfăptuirea controlului inter-laborator al calităţii investigaţiilor clinice de laborator

Program inter-laborator a controlului calităţii investigaţiilor. Controlul inter- laborator al calităţii

investigaţiilor de laborator - este controlul comparabilităţii rezultatelor obţinute de câteva laboratoare pe acelaşi material de control cu aceeaşi metodă sau metode, ce obţin rezultate statistic autentice.

Înfăptuirea controlului inter-laborator al calităţii permite de a rezolva următoarele probleme:

1) a compara calitatea lucrului laboratoarelor participante;

2) a depista erorile sistematice, neprevăzute (întâmplătoare) şi grave în rezultatele obţinute în urma investigării materialelor de control;

3) a aprecia calitatea metodelor, aparatajului şi reactivilor, folosiţi în lucru.

Totodată fiecare laborator îşi poate compara rezultatele sale cu rezultatele altor labora-toare participante la control şi a se convinge în eficacitatea înfăptuirii controlului intra-laborator (intern) al calităţii investigaţiilor de laborator.

Principalul scop al controlului intern al calităţii investigaţiilor de laborator - este atingerea rezultatelor comparabile între laboratoarele participante la control.

In dependenţă de durata efectuării controlului se disting: **control de scurtă durată şi control de lungă durată.**

Organizarea. Controlul inter-laborator al calităţii investigaţiilor de laborator se efectuează cu periodicitatea o dată în trimestru de către Centrul Organizator-Metodic şi Centrul de Control a serviciului de laborator republican. În înfăptuirea controlului inter-laborator al calităţii Centrul de control efectuează următoarele măsuri organizatorice:

1) determină dată şi termenul efectuării controlului de calitate;

2) trierea, înştiinţarea şi înregistrarea laboratoarelor participante (codificarea);

3) elaborarea şi multiplicarea protocolului determinărilor de control şi programelor (instrucţiunilor) de control pentru participanţii controlului inter-laborator al calităţii;

4) determinarea termenului de prezentare a rezultatelor cercetării materialelor de control;

5) expedierea probelor de control;

6) colectarea rezultatelor determinărilor de control obţinute;

7) prelucrarea statistică a datelor obţinute;

8) aprecierea şi notarea calităţii lucrului laboratoarelor participante (nota generală şi individuală) cu recomandări pentru înlăturarea (excluderea) cauzelor de erori.

Dată şi termenul efectuării se determină în dependenţă de numărul laboratoarelor participante, de situarea lor teritorială, de tipul de control (de scurtă durată sau de lungă durată), de disponibilitatea materialelor de control.

Trierea şi înregistrarea. Toate LDC, independent de capacitatea lor şi asigurarea cu state, sunt obligate să participe la controlul calităţii inter-laborator.

La controlul calităţii investigaţiilor de laborator e necesar să participe cel puţin 20 de laboratoare. Anume această condiţie v-a garanta obţinerea informaţiei suficiente şi o apreciere veridică a calităţii investigaţiilor de laborator efectuate.

În caz când la control vor participa mai multe laboratoare e necesar ca numărul indicilor testaţi la etapa iniţială să fie limitat. Este raţional de a începe controlul prin determinarea a câtorva componenţi (ca exemplu: glucoza, ureea, proteina totală, creatinina, colesterolul). În viitor numărul componenţilor poate fi mărit.

Procesul-verbal al determinărilor de control prezintă o tabelă cu enumerarea componenţilor supuşi controlului. În procesul-verbal se înscriu rezultatele obţinute a probelor de control, metodele de cercetare folosite, reagenţii (seturi de reagenţi), şi informaţia suplimentară solicitată de Centrul de control. Procesul-verbal se expediază în 2 exemplare fiecărui participant. Exemple de procese-verbale sunt prezentate în tabelele 1, 2 şi 3.

Program de control

Cercetarea probelor de control se efectuează după programele elaborate de Centrul de Control. În program e necesar să se indice principalele etape de lucru:

1) condiţiile de păstrare şi de dizolvare a materialelor de control;

2) lista indicilor de control supuşi testării;

3) lista metodelor de cercetare (codificate) (tabelul 4);

4) dată şi termenul efectuării investigaţiilor de control şi termenul de prezentare a rezultatelor obţinute;

5) adresa Centrului de control;

6) informaţie suplimentară (se determină de Centrul de control).

Materialele de control

Materialele de control, după proprietăţile fizico-chimice şi aparenţă, trebuie să fie iden-tice cu materialele clinice de cercetare, stabile în cursul transportării şi păstrării în perioada de efectuare a controlului calităţii investigaţiilor. Se permite de a folosi numai material de control care în prealabil a fost testat pentru utilizare în privinţa omogenităţii, stabilităţii, variabilităţii de turnare şi dizolvare. E necesar ca limitele concentraţiilor materialelor de control să se încadreze în limitele valorilor clinice ale metodei de determinare. În caz de utilizare a câtorva materiale de control e raţional ca limitele concentraţiilor să depăşească valorile clinice în aceleaşi intervale. Totodată materialele de control testate trebuie să conţină componenţi cu aşa concentraţii, care prezintă importanţă diagnostică.

In controlul exactităţii se folosesc materiale de control cu valori nominale, stabilite în prealabil în laboratoare de referinţă şi care pot fi considerate ca valori veritabile.

Laborator de referinţă este acel laborator, care obţine sistematic rezultate precise a biomaterialului cercetat.

In caz când sunt folosite materiale de control cu componenţi nedeterminaţi ca criteriu de apreciere a rezultatelor obţinute pot servi datele statistice calculate după prelucrarea rezultatelor tuturor participanţilor, folosind metoda «de excludere» (n 50).

Pentru controlul calităţii investigaţiilor biochimice se folosesc serurile de control. Serul de control, care poate fi folosit şi expediat în laboratoare, se produce în forma liofilizată. Serurile liofilizate sunt stabile la păstrarea în frigider nu mai puţin de un an. Dizolvarea serului necesită de a îndeplini cerinţe speciale.

Pentru controlul calităţii investigaţiilor hematologice se folosesc:

1. Soluţiile standard hemiglobincianură pentru controlul exactităţii funcţionării fotometrului şi pentru construirea curbelor de etalonare la determinarea hemoglobinei (Hb) în sânge, utilizând metoda - hemoglobincianurica.

2. Soluţie de sânge hemolizat pentru controlul reproductibilităţii la determinarea hemoglobinei.

3. Sânge conservat sau stabilizat cu conţinut normal, ridicat şi scăzut de hemoglobină.

4. Celule fixate ale sângelui uman sau al animalelor, sau particule artificiale ce imită celulele sângelui - pentru controlul calităţii la numărarea celulelor sângelui (eritrocite, leucocite, trombocite).

5. Frotiuri de control (vopsite sau nevopsite cu formula leucocitara în normă sau patologică) - pentru controlul calităţii la calcularea formulei leucocitare.

Pentru controlul calităţii investigaţiilor în coagulologie se folosesc:

1) Standard de tromboplastină (cu timp (activitate) precis).

2) Plasma umană de control cu activitatea determinată a tromboplastinei.

3) Plasma umană de control cu activitatea determinată a tromboplastinei parţial activată.

4) Plasma umană de control cu deficitul unor factori plasmatici ai coagulării sanguine (III, IX, XI, etc.).

Ca control al calităţii investigaţiilor în studiul componenţei chimice a urinei se foloseşte amestec liofilizat de urină cu componenţi determinaţi şi nedeterminaţi, soluţii de control artificiale - soluţii special pregătite, în care sunt dizolvate substanţele necesare (glucoza, ureea, proteine, acetona, etc.) şi în prealabil cercetate în laboratoarele de referinţă.

Efectuarea cercetărilor de control în laboratoare

Odată cu probele de control fiecare laborator primeşte programul investigaţiilor de control şi proces-verbal.

Principiile şi cerinţele principale, care este obligat să le respecte fiecare participant, la realizarea investigaţiilor de control:

1) e necesar ca analiza (cercetarea) probelor de control să fie inclusă în regimul obişnuit de lucru al laboratorului;

2) se efectuează analiza probelor de control de personalul care îndeplineşte astfel de investigaţii zilnic;

3) în cercetarea materialului de control se folosesc aceleaşi metode de investigare care sunt folosite în laborator zilnic;

4) pentru o apreciere obiectivă, e necesar ca executantul să nu cunoască faptul că investighează materialul de control.

Aprecierea rezultatelor

Pentru aprecierea rezultatelor obţinute în urma controlului calităţii inter-laborator se efectuează următoarea prelucrare statistică:

1) evaluarea frecvenţei repartiţiei statistice a rezultatelor participanţilor pentru fiecare probă de control în parte. În caz când se obţine frecvenţa de repartiţii statistice cu multe piscuri e necesar de a depista factorii, care au influenţat (ca exemplu diferite metode de cercetare) şi în dependenţă de aceasta rezultatele se clasifică în grupe omogene, care sunt prelucrate analogic grupelor cu un singur pisc;

2) în caz de distribuire simetrică (de exemplu distribuire normală) se calculează, media aritmetică (X) şi valoarea devierii mediei la pătrat (S). Pentru eliminare a valorilor grosolane se foloseşte metoda «prin excludere» (drept criteriu se considera limita de 2S). Numărul valorilor excluse se înregistrează;

3) lipsa unei distribuiri normale necesită calculul medianei şi procentelor 5 şi 95.

Estimarea exactităţii rezultatelor. Evaluarea rezultatelor controlului exactităţii e analogică estimării comparabilităţii. Deosebirea esenţială constă în stabilirea criteriului de evaluare. La aprecierea exactităţii - aceasta este o valoare nominală care se determina în baza rezultatelor obţinute în laboratoarele de referinţă.

La aprecierea comparabilităţii - se ia valoarea medie corijata a rezultatelor obţinute de toţi participanţii; pentru aprecierea rezultatelor determinării unui parametru în ambele tipuri de control drept criteriu serveşte diferenţa dintre valoarea obţinută şi cea stabilită.

La organizarea controlului exactităţii e necesar ca informaţia despre valorile nominale şi analiza detailată a datelor obţinute să fie expediată fiecărui participant în decurs de o lună după primirea rezultatelor. Acest fapt v-a permite participanţilor în termen scurt să înlăture erorile comise.

Diferenţa între valoarea obţinută şi valoarea stabilită poate fi reprezentată printr-o mărime relativă în procente.

Aprecierea comparată a câtorva laboratoare - participante, care au determinat acelaşi parametru poate fi reprezentat printr-un şir crescând, în dependenţă de devierea procentuală.

Pentru aprecierea comparabilităţii (sau exactităţii) rezultatelor diverselor laboratoare este folosit deasemenea indicele devierii mediei la pătrat (IS).

Pentru aceasta rezultatul fiecărui laborator se exprima în unităţi relative ale devierii mediei la pătrat, care se calculează după următoarea formulă:

$IS = \frac{X_{lab} - \mu}{S}$, unde - Xlab - rezultatul obţinut de laborator;

- şi S - datele fişei serului de control (valoarea veridică şi devierea mediei la pătrat).

Rezultatul obţinut se consideră admisibil atunci când valoarea IS nu va fi mai mare [> 2,561] (=2%). Totodată, rezultatele pot fi prezentate sub forma de grafic, în caz când se cercetează 2 probe de material de control cu diferite concentraţii a componenţilor.

Cea mai simplă formă este varianta modificată a graficului Youden, unde rezultatele laboratorului sunt reprezentate în mod identic. Devierile ambelor rezultate, în aceiaşi direcţie indică prezenţa unor erori sistematice.

Valorile corijate ale mediei aritmetice () şi a devierii mediei la pătrat (S), servesc pentru aprecierea comparabilităţii generale a fiecărui laborator.

Pentru estimarea reproductibilităţii interlaboratoriale a rezultatelor obţinute de fiecare laborator-participant coeficientul de variaţie a fiecărui component se compară cu valoarea limitei admisibile a erorilor (LAE) calculată conform formulei TONX:

$$LAE = \frac{\frac{1}{4}\left(\frac{Valoarea\ \max imal\breve{a}}{a\ \lim itei\ normale} \div \frac{Valoarea\ \min imal\breve{a}}{a\ \lim itei\ normale}\right)}{Valoarea\ medie\ a\ \lim itei\ normale} \times 100$$

In caz de control de lungă durată prin determinări repetate a unei probe de control se calculează valoarea mediei aritmetice şi devierea mediei la pătrat (n > 10). Devierea valorii medii de la valoarea

cuvenită se verifică prin semnificaţie (testul «t»).

Devierea semnificativă statistic se compară cu devierea admisă stabilită în dependenţă de componenţi şi concentraţii. În caz de necoincidenţă rezultatele se consideră incorecte.

Devierea mediei la pătrat se verifică la coincidenţa semnificativă statistic cu reproductibilitatea cerută şi stabilită în dependenţă de componenţi şi concentraţii.

La coincidenţa semnificativă statistic reproductibilitatea rezultatelor obţinute de participant - nu corespunde cerinţelor stabilite.

Rezultatelăe prelucrate statistic se prezintă în forma de tabel, pe fiecare compartiment al diagnosticului de laborator, cu date ce indică comparabilitatea şi calitatea rezultatelor.

E necesar ca fiecare material de control să fie însoţit cu instrucţiuni detailate (uzina producătoare, numărul seriei). Pentru toţi parametrii supuşi controlului se indică valorile nominale, valorile medii, devierile mediei la pătrat şi coeficienţii de variaţie până şi după prelucrare statistică, de-asemenea numărul de laboratoare care au determinat acest parametru.

E necesar ca laboratoarele participante să fie informate despre procentul de deviere a rezultatelor lor pentru fiecare component şi valoarea indicelui devierii mediei la pătrat (IS). În afară de tabele, e necesar de a oferi o apreciere generală a calităţii lucrului efectuat de toţi participanţii şi o apreciere individuală pentru fiecare laborator cu recomandări corespunzătoare în depistarea şi înlăturarea factorilor ce provoacă erori în investigare.

Independent de informaţia care va fi expediată fiecărui laborator, este binevenit de a efectua, periodic, o analiza amplă a rezultatelor care v-a cuprinde un şir de experienţe de control. Scopul acestui rezumat este de a da o caracteristică a calităţii rezultatelor obţinute de laboratoarele supuse controlului, pe perioada dată de timp, informând fiecare participant despre rezultatele obţinute comparativ cu alte laboratoare.

La înfăptuirea controlului inter-laborator al calităţii investigaţiilor e necesar de a respecta confidenţialitatea fiecărui participant. Informaţia despre rezultatele testărilor de control obţinute urmează a fi transmisă directorilor instituţiilor medico-sanitare doar în cazul ineficientei controlului de calitate atunci când laboratorul prezintă permanent rezultate eronate şi ajutorul acordat în astfel de cazuri de către Centrul de control, nu dă rezultatele scontate. Toate laboratoarele sunt codate (fiece laborator cunoaşte numai codul său).

Tabelul 7.1

Proces verbal al investigaţiilor biochimice

Nr.	Componentul cercetat	Unităţile de măsură	Metoda folosită	Rezultatele cercetării	
				Serul N 1	Serul N 2
1	Proteina totală				
2	Colesterolul				
3	Glucoza				
4	Ureea				
5	Creatinina				
6	Clorul				
7	Sodiul				
8	Potasiul				
9	Bilirubina totală				
10	Alaninaminotransferaza				
11	Aspartataminotransferaza				
12	Amilaza				
13	Fosfataza alcalină				

Adresa instituţiei
Şeful laboratorului
Responsabil de control

Tipul instituţiei
Codul
Data

Adnotare:

Semnăturile:

Tabelul 7.2

Proces verbal al investigațiilor hematologice

Formula leucocitară	N 1	N 2	N 3
Metoda colorării frotiurilor			
Celulele:			
Bazofile			
Eozinofile			
Neutrofile nesegmentate			
Neutrofile segmentate			
Limfocite			
Monocite			

Cercetarea (investigarea) sângelui conservat

Componentul cercetat	Uunitățile de masură	Metoda folosită	Rezultatele
Eritrocite			
Hemoglobina			
Leucocite			
Trombocite			
Indicele cromatic			

Cercetarea soluției standard

Componentul cercetat	Unitățile de masura	Metoda folosită	Rezultatele

Adresa instituției
Seful ladoratorului

Dată investigării
Semnaturile:

Tabelul 7.3

Proces verbal al cercetării componenței chimice a urinei

Codul __________

Componentul	Unitățile de masură	Metoda folosită	Rezultatele
Proteina totală			
Glucoza			
Sânge ocult			
Acetona			
Bilirubina			
Creatinina			
Reacția (pH)			

Adresa instituției
Seful laboratorului
Semnăturile:

Dată cercetării

Codurile pentru metodele de cercetare

Sodiu şi potasiu (mmol/l)

1. Metoda fotometriei de emisie
2. Metoda colorimetrică
3. Metoda ionometrică
4. Alte metode

Clorul (mmol/l)
1. Metoda titrării cu nitrat de mercur
2. Metoda fotometrică
3. Metoda conductometrică
4. Alte metode

Calciu (mmol/l = mEq/l x 0,5)
1. Metoda de complexare cu o-crezolftaleină
2. Metoda ionometrică
3. Alte metode

Fosforul anorganic (mmol/l)
1. Metoda reducerii acidului fosfomolibdenic cu acidul aminonaftolsulfonic după îndepărtarea proteinelor.
2. Metoda reducerii acidului fosfomolibdenic de către alti reducători după îndepărtarea proteinelor.
3. Metoda de reducere a acidului fosfomolibdenic fără îndepărtarea proteinelor.
4. Metoda directă cu verdele de malahit.
5. Alte metode.

Proteina totală (mmol/l = mg/100 ml x 0,323; g/l = g/100 ml x 10)
1. Metoda biuretului
2. Metoda Lowry
3. Alte metode

Ureea (mmol/l = mg/100 ml x 0,1668)
1. Metoda cu urează
2. Alte metode

Glucoza (mmol/l = mg/100 mlx0,0555)
1. Metoda cu glucozoxidază
2. Metoda cu hexokinază
3. Alte metode

Colesterolul (mmol/l = mg/100 mlx0,02586)
1. Metoda Ilc
2. Metoda enzimatică
3. Metoda cu acidul p - toluensulfonic
4. Alte metode

Creatinina (mmol/l = mg/100 mlx88,4)
1. Metoda Popper
2. Metoda bazata pe reacţia Iaffe cu acid tricloracetic
3. Alte metode

Instrucţiuni pentru diluţia serurilor de control liofilizate

Materialul dizolvat se păstrează de obicei 1-2 zile la temperatura +4 - +8 °C (excepţie fac glucoza, enzimele şi factorii de coagulare)

Cu pipeta gradată se măsoară precis cantitatea necesară de apa distilată indicată în etichetă (t=20 - 25 °C) şi minuţios se toarnă în flaconaş. Tot materialul pulverulent trebuie să fie complet transferat în soluţie. După 15 - 20 minute flaconaşul se agită cu mişcări lente în diferite direcţii, apoi se lasă până la dizolvarea completă. E necesar de a evita formarea spumei şi de a avea grijă ca materialul să se dizolve complet. Timpul pentru dizolvarea completă constituie 30 - 60 minute. Agitarea excesivă poate provoca denaturarea proteinelor solubile. În materialele, ce conţin enzime sau factori de coagulare, formarea spumei duce la pierderea activităţilor. Unele enzime, de exemplu fosfataza alcalină, ating activitatea maximala după 2 ore de la dizolvarea completă a materialului. La determinarea fracţiilor proteice prin metoda electroforetică nu se recomandă de a folosi materialul în curs de 2 ore până la dizolvarea completă.

Erorile tipice, ce apar la manipulările cu materialul liofilizat (ser sau plasmă) :

1. Erori determinate la pipetarea dizolvantului.
2. Pierderea substanţei liofilizate la deschiderea neatentă a sticluţei.
3. Insuficienţa timpului de expunere necesar pentru dizolvarea completă a serului.
4. Agitare excesivă sau încălzire la dizolvarea serului.
5. Nerespectarea perioadei de stabilitate după dizolvarea serului.
6. Nerespectarea condiţiilor de păstrare a materialului dizolvat.

TRASAREA GRAFICULUI YOUDEN

Pe lângă prelucrare statistică, rezultatele controlului inter-laborator pot fi prezentate sub formă de grafic ce permite participanţilor să-şi compare datele obţinute cu datele laboratoarelor de referinţă şi să diferenţieze tipul erorii admise.

Deci, graficul Youden permite de a aprecia nu numai calitatea investigaţiilor efectuate de fiecare laborator în materialele de control, ci şi de a determina tipurile de erori admise.

Pentru a utiliza forma grafică e nevoie ca fiecare laborator-participant să determine acelaşi component în două probe de control cu concentraţii diferite a componentului studiat (de exemplu A şi B). Pentru stabilirea graficului se alcătuieşte sistemul de coordonare, pe abscisă se pun valorile nominale ale componentului şi intervalele devierii mediei la pătrat pentru proba A, pe ordonată - aceiaşi indici pentru proba B (figura 7.1).

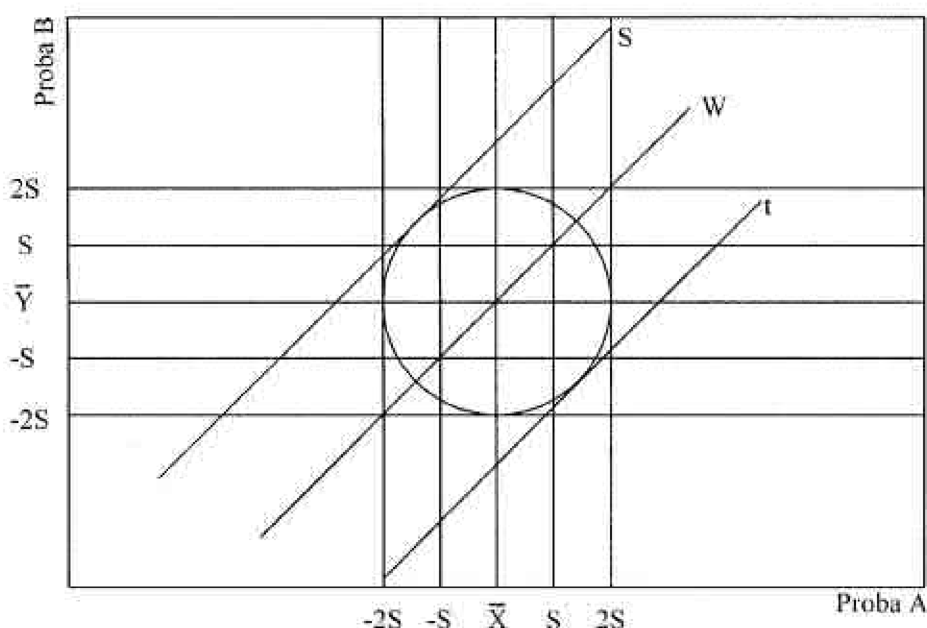


Figura 7.1. Trasarea graficului Youden.

Scara pentru devierea mediei este aceeaşi pentru ambele probe (A şi B). Din punctele X şi Y ce corespund valorilor nominale ale componentului dat din probele A şi B sunt trasate 2 drepte reciproc perpendiculare. Din punctul de intersecţie a dreptelor se construieşte o circumferinţă cu raza 2S. Apoi sub un unghi de 45 faţă de abscisă sunt trasate 3 drepte: dreapta W - prin centrul circumferinţei, S şi t dreptele - tangente la circumferinţă. Rezultatele probelor A şi B obţinute de fiecare laborator se introduc în grafic în forma de puncte. Atunci când cifrele obţinute sunt plasate în interiorul circumferinţei - rezultatele se consideră valabile. Atunci când datele obţinute sunt plasate în afara circumferinţei, însă între dreptele S şi t - se consideră că laboratoarele au obţinut valori crescute sau scăzute pentru ambele probe, ceea ce indică erori sistematice. Punctele aşezate în apropierea dreptei W indică o stabilitate în lucrul laboratorului. Punctele, care au ieşit din limitele graficului dat, se consideră ca erori întâmplătoare, şi nu prezintă informaţii despre exactitatea rezultatului. Astfel, graficul Youden permite de a diferenţia evident erorile sistematice şi întâmplătoare admise pe parcursul lucrului în laborator şi, de asemenea, evidenţierea laboratoarelor, care lucrează în limitele permise. Fiecare laborator-participant va primi un formular, în care se indică rezultatele prelucrate statistic ale laboratorului dat şi rezultatele tuturor participanţilor, precum şi graficul Youden pentru fiecare component de control. Pe graficul Youden este evidenţiat punctul ce corespunde rezultatelor obţinute de laboratorul dat în privinţa unui component. În figura 7.2 este prezentat graficul Youden pentru dozarea colesterolului (metoda Ilik) în urma investigării a 2 seruri de control cu conţinut determinat de colesterol. Investigaţiile s-au efectuat în 32 laboratoare, 14 din ele au obţinut rezultate bune (punctele se află în cerc). Restul rezultatelor sunt - inexacte. Punctul evidenţiat cu numărul codificat 52 din cadranul din dreapta de sus, arată că în laboratorul unde s-au efectuat aceste investigaţii s-au comis erori sistematice, deoarece rezultatele ambelor probe sunt crescute. Dacă analizăm punctul 15 din cadranul din stânga - atunci putem spune ca s-a comis o eroare întâmplătoare, întrucât rezultatul probei B este aproape de valoarea nominala, iar rezultatul probei A - scăzut.

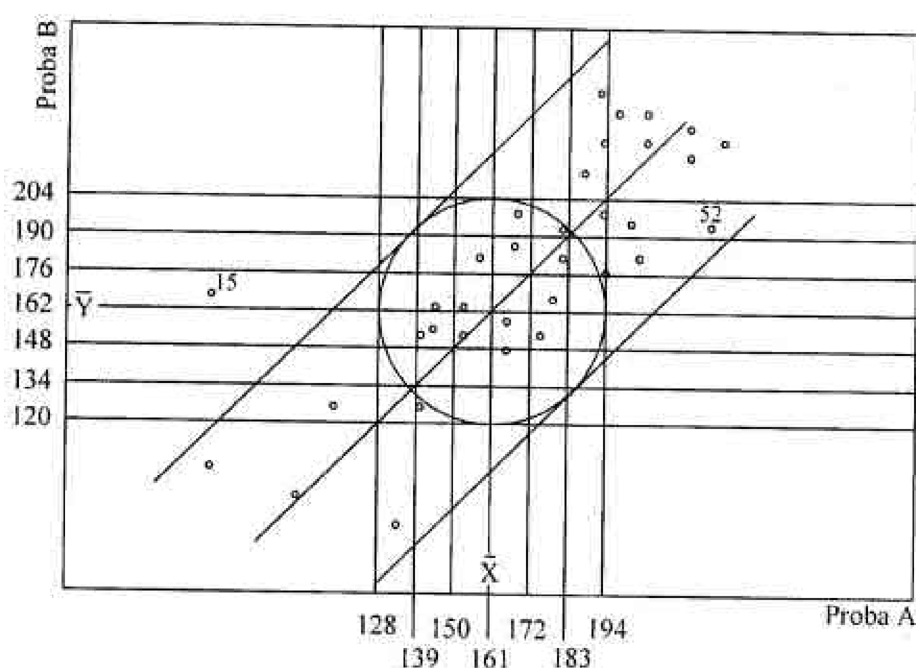


Figura 7.2. Graficul Youden pentru dozarea colesterolului

7.1 Indicații metodice pentru efectuarea controlului calității investigațiilor hematologice

I. PRINCIPII GENERALE

Pentru a obține rezultate autentice în investigațiile hematologice, una din condiție este de a implementa în activitatea laboratorului controlul calității investigațiilor hematologice, ce prezintă un sistem eficace de îmbunătățire a calității determinărilor.

Specificitatea investigațiilor hematologice necesită anumite mate-ri-ale de control ce nu se folosesc în alte compartimente de cercetare în laborator. Controlul intra - și inter-laborator al calității investigațiilor hematologice se efectuează conform indicațiilor metodice, elaborate de Centrul de Control al Serviciului de laborator.

Implementarea controlului intra - și inter-laborator al calității investigațiilor hematologice în cadrul laboratorului este efectuată de medicii de laborator.

II. CONTROLUL INTRALABORATOR AL CALITĂȚII

Pentru înfăptuirea controlului intra-laborator al calității investigațiilor hematologice se pot folosi metode ce necesită materiale sau mijloace de control speciale, și metode, ce nu necesită materiale de control:

1. Analiza probelor paralele.
2. Analiza probelor întâmplătoare.
3. Analiza probelor repetate.
4. Analiza probei mixte.
5. Metoda mediei valorilor normale (după datele pacienților).
6. Controlul inter-laborator al calității.

Metode, bazate pe folosirea materialelor speciale de control.

Metodele bazate pe materiale speciale de control permit determinarea exactității și reproductibilității rezultatelor investigațiilor hematologice.

Principalul criteriu, după care se utilizează aceste materiale, este stabilitatea lor în timp.

Pregătirea materialelor de control pentru investigațiile hematologice este legată de anumite dificultăți, cauzate de viața scurtă a celulelor sângelui în afara organismului și de dereglările rapide ale proprietăților lor funcționare și fizico-chimice. Din această cauză obiectivă termenul de valabilitate a acestui material este limitat.

Actualmente se recomandă următoarele materiale de control:

1. Soluție standard de hemiglobin-cianură.
2. Sânge de donator.
3. Soluție de sânge hemolizat.
4. Sânge conservat.
5. Suspensie de celule sanguine fixate.
6. Celule din materiale sintetice, care imită celulele sângelui.
7. Frotiuri de control (colorate și necolorate, normale și patologice).

III. CONTROLUL REPRODUCTIBILITĂȚII

Controlul reproductibilității rezultatelor investigațiilor hematologice se înfăptuiește cu materiale de control speciale prin calculul următorilor parametri statistici: valoarea mediei aritmetice ($\overline{X}$); abaterea mediei pătratică (S), coeficientul de variație (V).

Cu acest scop, pe parcurs de 20 de zile se determină componentul ales al materialului de control prin metoda utilizată în laboratorul dat, după ce se face calculul parametrilor statistici.

În caz când unul din rezultate diferă considerabil de celelalte, acest rezultat este evaluat cu ajutorul criteriului T.

După stabilirea criteriilor statistice se alcătuiește harta de control al calității, ce prezintă sistemul de

coordonate, unde pe abscisă se pun zilele în care a avut loc determinarea, iar pe ordonată - concentrația componentului în unitățile respective de măsură.

Prin mijlocul ordonatei paralel cu abscisa este trasată o dreaptă (indică media aritmetică), iar în sus și în jos de la aceasta dreaptă și paralel ei, conform scării alese sunt trasate drepte care indică limitele de control + 2S și - 2S.

Harta de control se alcătuiește pentru fiecare component și serie a materialului de control. În cazul schimbului seriei materialului de control, procedeul se repetă, construindu-se o nouă hartă de control.

Rezultatul obținut în fiecare zi se depune pe hartă sub formă de punct și servește pentru a aprecia reproductibilitatea determinării componentului dat.

Exemplu I. Alcătuirea hărții de control pentru hemoglobină (figura 3).

Pe parcurs de 20 zile s-a determinat conținutul de hemoglobină (g/l) în soluția de control și s-au obținut următoarele date: 120, 122, 121, 123, 120, 121, 122, 123, 121, 121, 123, 119, 120, 118, 119,120, 119, 122, 118, 119.

$$\sum x = 2111; \quad \overline{X} = \frac{\sum x}{n} = 120{,}5; \quad \sum(\overline{X} - x)^2; \quad n = 20;$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum(\overline{X} - x)^2}{n-1}} = 1{,}6; \quad V = \frac{S \times 100}{\overline{X}} = 1{,}33\%$$

$\overline{X}$ + 1S = 120,5 + 1,6 = 122,1 + 2S = 120,5 + 3,2 = 123,7

- 1S = 120,5 - 1,6 = 118,9 - 2S = 120,5 - 3,2 = 117,3

+ 2S
+1S
X
-1S
-2S

123,7
122,1
120,5
118,9
117,3
zile de cercetare

Figura 7.3. Harta de control la hemoglobină

La utilizarea hărților de control este rațional de a se folosi de criteriile de avertizare și de control, după care ne putem orienta și depista neajunsuri în munca laboratorului.

IV. CONTROLUL CORECTITUDINII

Controlul corectitudinii rezultatelor investigațiilor hematologice se efectuează cu ajuto-rul materiale-lor de control cu conținut determinat (stabilit precis) al componenților, se calculează parametrii statistici și se determină autenticitatea diferențelor dintre valoarea obținută și cea indicată în fișă.

Pentru aprecierea corectitudinii determinării componentului dat este necesar de a efectua 10 cercetări paralele folosind materialul de control cu conținut determinat al componenților, după ce se calculează media aritmetică și se compară cu datele din fișă. Dacă rezultatul obținut se încadrează în limitele abate-rilor admise indicate în fișa materialului de control, atunci corectitudinea investigațiilor se consideră satisfăcătoare. În caz contrar autenticitatea diferențelor rezultatelor se estimează după criteriul t Stiudent.

V. METODELE, CE NU NECESITĂ MATERIALE DE CONTROL

Cercetarea probelor paralele permite de a aprecia reproductibilitatea rezultatelor după probele de sânge a bolnavilor.

Pentru realizarea acestui control se aleg 10 probe întâmplătoare şi fiece probă se cercetează de două ori. Acest tip de cercetare permite de a caracteriza calitatea investigaţiilor.

Exemplul 2. Pentru evaluarea reproductibilităţii rezultatelor determinării numărului de leucocite au fost studiate paralel 10 probe de sânge integru ce conţine anticoagulant. Rezultatele sunt prezentate în tabelul nr.7.4

Tabelul Nr. 7.4

DETERMINAREA REPRODUCTIBILITĂŢII PRIN NUMĂRAREA DUBLĂ A LEUCOCITELOR
(10 probe)

Nr. probei	A	B	A – B	$(A - B)^2$
1	7970	7400	570	324900
2	9470	9230	240	57600
3	7410	7230	180	32400
4	14820	15410	590	345100
5	3610	4690	1080	1166400
6	4590	6280	1690	2856100
7	4,490	3700	790	624100
8	9,980	10870	890	792100
9	14,890	14260	630	396900
10	5,240	5540	300	90000

La început se determină diferenţa fiecărei perechi, apoi diferenţa se ridică la pătrat, se calculează suma $(A - B)^2$ şi se împarte la $2n$ (unde n- numărul de perechi), deoarece fiecare pereche prezintă o variabilă individuală şi fiecare parte componentă a perechii are variabilitatea să proprie.

In continuare se calculează abaterea medie pătratică şi se alcătuieşte harta de control pentru evaluarea reproductibilităţii analogică cu cea descrisă mai sus pentru probele de control.

$$\sum(A-B)^2 = \sum d^2 = 6688600\,;\; S = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{\frac{6688600}{2\times 10}} = \sqrt{334430} = 578.3;\; 2S = 1156.6$$

Diferenţa dintre două cercetări efectuate pe una şi aceiaşi probă este notată zilnic în hartă.

Limitele de control sunt 0 + 2S (în exemplul numărării leucocitelor de la - 1,157 până la + 1,157). Rezultatele, ce nu se includ în limitele de control, demonstrează cu probabilitatea 95% existenţa unor încălcări în sistemul de cercetări.

În aşa caz se depistează cauza posibilă a dispersiei rezultatelor şi cercetările se repetă din nou mai minuţios.

Cercetarea probelor aleatoare (întâmplătoare). Metoda este analogică metodei probelor paralele. Diferenţa constă în faptul că în loc de analiza tuturor probelor laborantul cercetează una sau două probe alese prin sondaj. Aceste probe pot fi alese la întâmplare de către seful de laborator fără ştirea laborantului. În aşa mod şeful de laborator apreciază reproductibilitatea rezultatelor obţinute de laborant.

Cercetarea probelor repetate. Principiul metodei constă în cercetarea repetată a câtorva probe alese la întâmplare, numărul cărora este proporţional cu numărul investigaţiilor efectuate. Comparând perechile corespun-zătoare de rezultate, se obţin date obiective despre calitatea investigaţiilor efectuate. Investigaţiile repetate ale probelor se efectuează după îndeplinirea analizelor din ziua curentă. La folosirea metodei menţionate este necesar de a analiza repetat nu mai puţin de 5% din probe (eşantioane).

Metoda probelor repetate permite de a aprecia calitatea funcţionării utilajului şi a lucrului laborantului la efectuarea inves-ti-gaţiilor. Metoda poate fi utilizată în orice laborator indiferent de numărul de cercetări efectuate. Deficienţa metodei constă în imposi-bilitatea controlului exactităţii rezultatelor obţinute.

Probele alese pentru analize repetate pot fi studiate în ziua următoare în scopul calibrării aparatajului. Pentru conservarea celulelor sanguine se adaugă EDTA (1-2 mg la 1 ml sânge) păstrându-le la + 4 °C.

Cercetarea probelor mixte. La estimarea reproductibilității prin metoda probelor duble se obțin valori mai apropiate față de valorile obținute în mod obișnuit în prezența erorilor aleatoare. La cercetarea probelor mixte acest fapt este exclus. Metoda constă în următoarele: dintr-un grup de probe se aleg întâmplător două (A și B), din fiecare proba A și B se iau volume egale și se amestecă (proba C). Se cercetează toate trei probe. Determinarea reproductibilității după proba mixtă este prezentată în tabelul 7.5.

Pentru a alcătui harta de control după această metodă se recomandă de a cerceta probele mixte pe parcurs de 40 zile. În figura 7.4 este expusă harta de control pentru cercetările hematocritului.

Tabel 7.5

DETERMINAREA REPRODUCTIBILITĂŢII DUPĂ PROBA MIXTĂ

Componentul cercetat	A	B	C	$\frac{A+B}{2}$	Diferența *
Hemoglobina	125	142	130	133,5	3,5
Hematocrit	47	52	50	49,5	0,5

* Diferența dintre valoarea în proba C și valoarea teoretică $\frac{A+B}{2}$

Apoi se calculează media deviației (d) pentru analizele răzlețe va constitui 1,25333.
De aici, 50% dreapta va constitui 1,2533 x 0,674 = 0,845,
95% " " 1,2533 x 1,960 = 2,45,
99,5% " " 1,2533 x 2,807 = 3,50.

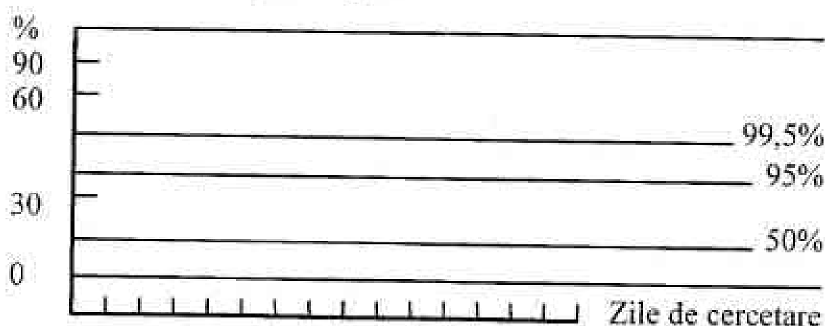


Figura 7.4. Harta de control pentru cercetările hematocritului

Mărimile 0,674, 2,807 și 1,960 sunt luate din tabelul distribuției sumare normale (R.N.Barnett,1977). De exemplu, domeniul valorilor + 1,96 S în tabel include 25% valori din limita de sus și 25% valori din limita de jos. Ulterior în fiecare zi se pregătește o probă mixtă și rezultatul se depune pe hartă. Dacă mai multe puncte nimeresc mai sus de dreptele 95% și 99,5%, se i-au măsurile corespunzătoare pentru cauzelor greșelilor.

Repartizarea punctelor prezintă rezultatele testărilor hematocritului. Fiecare punct prezintă diferența dintre valoarea teoretica, calculată ca media din două probe și valoarea reală (autentică), obținută la cercetarea probei mixte. Pe hartă două valori au nimerit după limitele 99,5%.

Utilizarea valorilor constante pentru anumite cercetări hematologice presupune, ca constantele pentru elementele figurate ale sângelui în grupele de persoane normale întotdeauna vor nimeri înăuntrul unei zone apropiate, care poate fi folosită ca limita de control. Pentru aceasta este necesar de a alege nu mai puțin de 11 probe de sânge a oamenilor maturi sănătoși. Probele se consideră normale, dacă ele corespund următoarelor condiții: eritrocite – 4×10^{12} */l* și mai mult; hematocritul -36% și mai mult; eritrocitele în frotiuri în normă; conținutul mediu al hemoglobinei într-un eritrocit (CMHE) în limitele 26 - 36 pg/er., iar concentrația medie a hemoglobinei (CMH) constituie 32 – 36%. Se determină totodată concentrația hemoglobinei în sânge. În caz de respectare a acestor condiții valorile medii (constantele) parametrilor menționați în 11 probe selectate (sau pentru un număr mai mare de probe) vor alcătui:

pentru CMHE - 29-30 pg/er,
pentru CMH - 32-33%.

În afara de aceasta, în limita $X+2S$ trebuie să între cu aproximaţie valorile normale. Harta de control se alcătuieşte luând în consideraţie aceste limite. Pentru fiecare serie de eşantioane reprezentative se calculează media şi deviaţia medie pătratică; dacă unul din cei doi parametri va nimeri în afara controlului, atunci se vor lua măsurile pentru relevarea cauzelor greşelilor. Aceasta metodă dă posibilitatea de a releva modificările valorilor medii şi a reproductilibilităţii. Deoarece, în fiecare din mărimile calculate întra două varia-bile, de obicei constatăm mai multe valori care depăşesc limita de control, decât cele aşteptate.

De pildă, să admitem, că conţinutul normal de hemoglobină constituie – 154 ± 1,70 g/l; numărul de hematii - $5\times110^{12} \pm 170\times10^{6}$/l; CMHE – 30,8. Dacă conţinutul de hemoglobină > 2S (valoarea 157,4), iar numărul de hematii va constitui < 2S (valoarea $4{,}66\times10^{12}$/l), atunci CMHE va constitui 33,77, adică se va aflã în afara controlului, măcar că valorile autentice ale ambelor componente se aflau în limitele controlului. Dacă greşelile sunt întâmplătoare, ele pot fi neglijate, însă această metodă este foarte sensibilă chiar şi la greşeli constante modeste şi ajuta la relevarea zonelor normale nereal reduse.

VI. METODA MEDIEI VALORILOR NORMALE (după datele bolnavilor)

Metoda se bazează pe analiza statistică a rezultatelor probelor bolnavilor. Se presupune că valoarea medie obţinută prin aceasta metoda într-o zi ori pe o perioada anumită de timp, la un volum de lucru al laboratorului nu mai puţin de 30 de determinări, se menţine zi de zi aproximativ constantă. Dacă zilnic se strecoară o eroare sistematică, atunci aceasta se manifestă prin devierea valorii medii a rezultatelor.

Pentru a alcătui harta de control e nevoie de a efectua determinări zilnice pe parcurs de 20 zile, de a calcula media valorilor normale a componentului cercetat (zona normala se află în limitele $\overline{X} + 2S$). Valorile ce nu se încadrează în aceste limite sunt înlăturate. Apoi se calculează media, devierea mediei pătratice şi eroarea mediilor (m) pentru grupa de valori normale:

$$m = \frac{S}{\sqrt{n}},$$

unde n – numărul de valori normale a grupei.Apoi se calculează limitele de control + 2m . Alegerea 2m şi nu 3m face ca metoda să fie mai sensibilă şi măreşte frecvenţa relevării valorilor extra-control.

După construirea cartei de control zilnic se calculează media rezultatelor normale a componentului dat care se depune în forma de punct pe hartă. Cu cât rezultatul e mai aproape de valoarea medie cu atât media e mai eficace în determinarea zonei autentice.

Metoda mediei valorilor normale permite de a depista erori ce nu pot fi depistate prin alte metode, şi prezintă un control autentic la toate etapele de investigare a probelor pacienţilor.

Controlul inter-laborator al calităţii. Laboratoarele, care sistematic participă la controlul inter-laborator al calităţii investigaţiilor hematologice pot utiliza rezultatele controlului pentru estimarea lucrului laboratorului. Deosebit de importante sunt experienţele de control de lungă durată.

Abaterea mediei pătratice a rezultatelor laboratorului dat poate servi ca indicator la evaluarea exactităţii înfăptuirii testului dat, iar indicele devierii mediei pătratice *(IS)* reflectă capacitatea laborantului în îndeplinirea corectă a analizelor.

VII. EXERCITAREA CONTROLULUI CALITĂŢII UNOR PARAMETRI HEMATOLOGICI

Controlul calităţii determinărilor conţinutului de hemoglobină. Pentru controlul calităţii determinării hemoglobinei se utilizează soluţii standard de hemiglobincianură cu concentraţia cunoscută de hemoglobină şi soluţii speciale de control (sânge de donator, sânge hemolizat, sânge conservat).

Soluţia standard de hemiglobincianură se foloseşte pentru controlul exactităţii funcţionării fotometrelor şi pentru constru-irea curbelor etalon la determinarea concentraţiei de hemoglobină în sânge prin metoda hemiglobincianurică. Determinarea hemoglobinei se efectuează fotometric după curba etalon

construită pentru fiece fotometru conform unei serii de soluţii standard de hemiglobincianură cu concentraţie cunoscută de hemoglobină.

Soluţie de sânge hemolizat. Pentru controlul reproductibilităţii determinării hemoglobinei se utilizează soluţii de sânge hemolizat. Hemolizatul se prepară din sânge citrat de donator (sânge uman sau ecvin). Hemolizatul serveşte ca control în tot procesul de investigare şi este utilizat la determinarea hemoglobinei prin metoda cu hemiglobinicianură.

Substantele hemolizate şi solvenţii trebuie să corespundă următoarelor cerinţe de bază:

1) ele trebuie să fie incolore, transparente şi să nu reacţioneze cu coloranţii sângelui.

2) gradul diluării trebuie să fie sub control (se recomandă soluţie de sânge 1%).

Soluţiile optic transparente se prepară prin centrifugare sau utilizând soluţii de baze alcaline 0,1%, 0,25%, 0,4%; soluţie de uree 50%; soluţii de saponină şi altele (STAS 4212-76).

Soluţia de sânge hemolizat e stabilă nu mai puţin de un an, în condiţii de păstrare în frigider într-un vas de culoare închisă.

Pentru aprecierea reproductibilităţii determinărilor hemoglobinei hemolizantul este cercetat în decurs de 20 zile, se calculează X, S, V şi limitele de control (X + 2S), se alcătuieşte harta de control. Coeficientul de variaţie nu trebuie să depăşească 5%.

Pentru utilizarea hemolizatului în scopul controlului exactităţii e necesar de a determina concentraţia exactă a hemoglobinei în hemolizatul dat.

Restricţiile utilizării hemolizatului:

1) deficitul de sânge (sângele este un material deficitar);

2) caracterul greu al preparării soluţiilor sterile şi omogene în condiţii de laborator.

VIII. CONTROLUL CALITĂŢII NUMĂRĂRII CELULELOR SANGUINE

Materialele de control utilizate pentru controlul calităţii numărării celulelor sanguine trebuie să răspundă unui şir de exigenţe suplimentare:

1) Materialul trebuie uşor să treacă în stare omogenată, să nu se aglutineze.

2) Constantele fiziologice şi proprietăţile reologice ale materialului aflat în soluţie (viscozitatea, densitatea, indicele de refracţie, electroconductibilitatea) trebuie să corespundă parametrilor sanguini, iar forma şi dimensiunea particulelor să fie analogice elementelor figurate ale sângelui.

3) Materialul de control trebuie să fie chimic inert.

Metodele de preparare a unor astfel de materiale sunt prezentate mai jos.

IX.CONTROLUL CALITĂŢII NUMĂRĂRII ERITROCITELOR

Controlul calităţii determinării eritrocitelor cu ajutorul materialelor de control se înfăptuieşte prin metoda alcătuirii hărţilor de control, după principiul controlului mediat. Pe parcurs de 2 zile se efectuează 20 de determinări a numărului de eritrocite în sângele conservat, se calculează limitele de control şi se alcătuieşte harta de control.

Reproductibilitatea nesatisfăcătoare poate fi determinată de unele inexactităţi în numărarea eritrocitelor:

a) eroarea statistică e condiţionată de numărarea unei cantităţi mici de celule în sânge;

b) eroarea de distribuţie determinată de repartiţia neuniformă a celulelor în celula de numărat;

c) eroare mecanică, condiţionată de imperfecţiunea tehnică a camerei de numărat.

În figura 7.5 este expus un exemplu de calcul şi de alcătuire a cărţii de control pentru controlul calităţii numărării eritrocitelor în sânge.

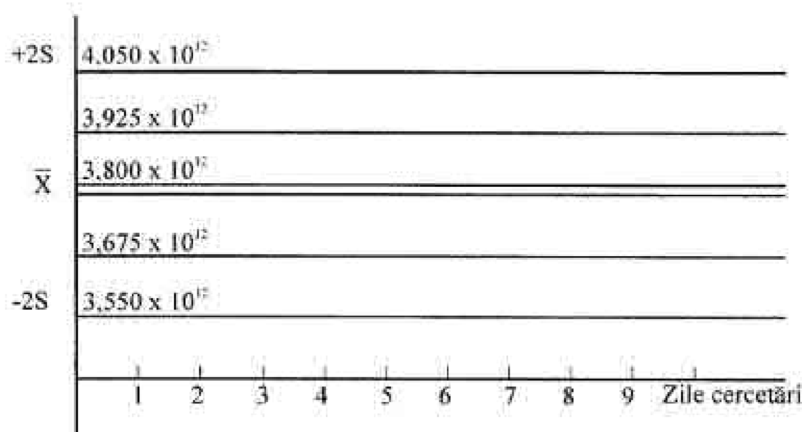


Figura 7.5. Exemplu de calcul şi de construire a cărţii de control pentru controlul calităţii numărării eritrocitelor în sânge.

$\overline{X} = 3{,}800 \cdot 10^{12}$; $S = 0{,}125 \cdot 10^{12}$;

$\overline{X} + 2S = 3{,}800 \cdot 10^{12} + 0{,}250 \cdot 10^{12} = 4{,}050 \cdot 10^{12}$;

$\overline{X} - 2S = 3{,}800 \cdot 10^{12} - 0{,}250 \cdot 10^{12} = 3{,}550 \cdot 10^{12}$

X. CONTROLUL CALITĂŢII NUMĂRĂRII FORMULEI LEUCOCITARE

O premiză indispensabilă pentru evidenţa corectă a particularităţilor morfologice ale celulelor sângelui, în frotiurile sanguine, sunt frotiurile bine preparate şi bine colorate.

Neîndeplinirea acestor condiţii duce la repartizarea neuniformă a celulelor sanguine sau la o relevare nesatisfăcătoare a particularităţilor morfologice ce vor provoca erori la investigare.

Condiţiile necesare pentru prepararea unui frotiu bun:

1) Frotiul începe cu 1-1,5 cm de la marginea îngustă a lamei şi se termină la 2-3 cm de la cealaltă margine. Lungimea totală a frotiului trebuie să cuprindă 0,5-0,75 din suprafaţă lamei.

2) Frotiul trebuie să fie de o grosime uniformă, dar nu ondulată.

3) Stratul de sânge nu trebuie să ajungă la marginea lungă a lamei, deci între strat şi marginea trebuie să rămână o distanţă de câţva milimetri. Un frotiu bun de sânge este mai gros la început, treptat se subţie şi se termină sub forma de urme lăsate de o perie fină.

Frotiurile ce depăşesc 3/4 din lungimea totală a lamei sunt groase. În aşa caz eritrocitele sunt lipite între ele sau aşezate ca un sul de monede, ceea ce împiedică studierea corectă a morfologiei lor.

Frotiurile mai scurte decât 1/2 din lungimea lamei, sunt prea subţiri, ceea ce conduce la faptul că leucocitele sunt izolate, puternic deformate şi neregulat distribuite. În caz când sticla de şlefuit se atinge de marginile lamei, atunci ele sunt acoperite de sânge. În aceste cazuri celulele mari se deplasează spre marginea frotiului şi aceasta conduce la o repartiţie neregulată a celulelor.

În frotiul neuniform în sectoarele mai groase se grupează limfocitele, în sectoarele mai subţiri - monocitele şi celulele segmentate.

Pentru studiul de bună calitate a morfologiei celulelor important este fixarea şi colorarea corectă a frotiurilor.

XI. CAUZELE ERORILOR

Fixarea corectă a frotiurilor măreşte rezistenţa elementelor figurate ale sângelui faţă de apă, ce se conţine în coloranţi, care fără fixarea frotiului hemolizează eritrocitele şi modifică structura leucocitelor. Fixarea frotiului, provocând coagularea proteinelor, leagă trainic preparatul de lamă.

În calitate de fixatori se propun: alcoolul metilic, alcoolul etilic, amestecul Nikiforov (constituind părţi egale de alcool etilic şi eter sulfuric). Cel mai bun fixator este alcoolul metilic.

Fixarea insuficientă dă o coloraţie slabă a granulaţiilor neutrofile a leucocitelor şi duce la o coloraţie

necalitativă a celulelor. Colorația calitativă a frotiurilor permite de a diferenția corect celulele sângelui și structura lor la examenul microscopic.

La colorarea frotiurilor, indiferent de metoda utilizată, este important de a respecta regulile metodice de pregătire a soluțiilor și intervalele de timp în decursul procesului de colorare.

La pregătirea soluțiilor este important de a tine cont de pH-ul apei (pH-ul trebuie să fie neutru).

Deoarece în vânzare se propun loturi de coloranți, care diferă după intensitatea colorației, e necesar de a stabili pe cale experimentală concentrația (diluția) și timpul de colorație pentru fiece flacon de colorant, prin experimentarea unui șir de preparate colorându-le cu soluții de diferite concentrații a colorantului, schimbând durata acțiunii lui.

Pentru controlul calității numărării formulei leucocitare se folosesc frotiuri de control. Frotiurile de control se prepară din sângele capilar al donatorilor și bolnavilor prin procedeul obișnuit, îndeplinind cerințele de preparare, fixare și colorare. Apoi, se numără formula leucocitară nu mai puțin de 20 de ori câte 200 celule ,de specialiști calificați (nu mai puțin de 5 persoane).

Datele obținute se prelucrează după criteriile statistice, calculând media aritmetică X și S. Pentru păstrarea îndelungată a frotiului el se acoperă cu o peliculă transparentă subțire de clei BF - 6, care protejează frotiul față de acțiunea factorilor mediului extern.

Pe lângă frotiurile special preparate, în calitate de probe de control sunt utilizate frotiurile studiate în laboratorul dat și care s-au dovedit a fi cele mai dificile pentru diagnostic. Frotiurile de control, atât normale cât și patologice, se introduc sistematic în procesul de lucru pentru controlul calității lucrului, efectuat de colaboratorii laboratorului.

Numărarea formulei leucocitare se consideră corectă, atunci când rezultatele numărării celulelor se încadrează în limitele de control $X \pm 2S$ (pentru fiecare tip de celule sanguine).

XII. CONTROLUL INTERLABORATOR AL CALITĂȚII INVESTIGAȚIILOR HEMATOLOGICE

Controlul inter-laborator al calității investigațiilor hematologice se efectuează în conformitate cu indicațiile metodice (anexa 15).

Controlul inter-laborator al calității investigațiilor hematologice se efectuează periodic, o dată în trimestru, sub conducerea centrului de control al serviciului de laborator republican.

În realizarea controlului calității inter-laborator a investigațiilor hematologice se recomandă de controla următorii parametri:

1) concentrația de hemoglobină (în normă și patologie);
2) numărul de eritrocite;
3) numărul de leucocite;
4) viteza de sedimentare a hematiilor;
5) valoarea hematocritului;
6) numărarea formulei leucocitare;
7) indicele cromatic.

În calitate de material de control este utilizat: sânge conservat, celule sanguine fixate, frotiuri de control.

Metodele de obținere și preparare a materialelor de control sunt expuse mai jos.

Probele de control sunt expediate în flacoane sau fiole închise ermetic. Materialul de control se repartizează în dependență de numărul participanților la control și de numărul de indici supuși controlului. Frotiurile de control pot fi pregătite pe pelicule radiologice și expediate în plicuri.

Frotiurile de control fixate, însă necolorate, sunt utilizate pentru controlul exactității colorației frotiurilor. Colorația este efectuată în laboratorul participant la control iar rezultatele numărării formulei leucocitare sunt expediate la Centrul de control, care apreciază exactitatea colorației frotiurilor și numărării formulei leucocitare.

Aprecierea rezultatelor. Rezultatele obținute în urma controlului se analizează de Centrul de Control, determinându-se criteriile de apreciere. Ca criteriu poate servi valoarea medie obținută în urma prelucrării statistice a rezultatelor tuturor participanților (nu mai puțin de 20 de laboratoare).

Parametrii cantitativi (concentraţia de hemoglobina, hematocritul, celulele sângelui) se apreciază statistic astfel: datele ce se includ în limitele X 1,5 S sunt bune; X 2S- satisfăcătoare şi >X 2S nesatisfăcătoare. -Frotiurile de sânge se apreciază după 2 criterii - satisfăcător şi nesatisfăcător.

Satisfăcător - include numărarea corectă a formulei leucocitare cu descrierea morfologiei modificate a eritrocitelor şi leucocitelor. La examinarea frotiurilor de sânge patologic, laboratorul trebuie să prezinte o concluzie succintă despre patologia presupusă.

Nesatisfăcător se consideră examenul la care lipseşte descrierea morfologiei modificate a eritrocitelor sau nu s-a găsit un oarecare tip de patologie (deviere spre stânga a formulei leucocitare, eozinofilie, reacţia limfocitară şi monocitară, devierea formulei până la mieloblaşti, prezenţa celulelor plasmatice, etc.).

XIII. METODA PREPARĂRII MATERIALELOR DE CONTROL

Materialele de control se pregătesc, se prelucrează şi se cercetează după metodele descrise mai jos. E necesar de a diferenţia erorile de investigare de erorile caracteristice materialului de control. Pentru a omite astfel de erori e necesar de a respecta cerinţele de păstrare a materialului, deoarece schimbările, ce pot avea loc, vor majora reproductibilitatea metodei de investigare.

Controlul intra-laborator al reproductibilităţii rezultatelor hematologice se realizează după metoda curentă, cu alcătuirea hărţii de control unde zilnic se depun prin puncte valorile probelor de control.

Pentru determinarea veritabilă a numărului de celule în materialul de control se foloseşte numărarea directă a materi-alului diluat în camera pentru numărarea celulelor. Această metodă este destul de exactă atunci când se folosesc pentru numărare camere verificate, iar numărarea se face de mai multe ori pentru a evita erorile neprevăzute. Media aritmetică a rezultatelor obţinută în urma numărării serveşte ca criteriu pentru estimarea exactităţii examinărilor.

XIV. MATERIALELE DE CONTROL PENTRU DETERMINAREA HEMOGLOBINEI. PREGĂTIREA SOLUŢIEI DE HEMOLIZAT

Pregătirea soluţiei de hemolizat. Pentru pregătirea hemoliza-tului e necesar:

1) sânge (uman) conservat (citrat), se permite cu termen expirat;

2) sânge (de cal) conservat;

3) sânge proaspăt (uman) de donator colectat într-un vas ce conţine soluţie de citrat de sodiu 0,6 mol/l în raport de 1:5.

Se i-a 200 ml de sânge colectat pe citrat şi se centrifughează 30 min la 3000 tur/min. Plasma se înlătură. La sedimentul de eritrocite se adaugă 100 ml de apă distilată sterilă, minuţios se agită 30 min. Soluţia se păstrează 24 ore la t - 20 °C. După 24 de ore se dezgheaţă şi iarăşi se agită 30 min. Soluţia se filtrează în condiţii aseptice (filtrul N4 - dimensiunea porilor 4 - 10 mkm), se toarnă în sticluţe sterile câte 1 ml. Se păstrează în congelator la t - 20 °C. Este stabilă 1 an.

Hemolizatul se utilizează pentru controlul reproductibilităţii rezultatelor determinării hemoglo-binei cu ajutorul hărtilor de control. În cazul când laboratorul dispune de material de control cu concentraţia cunoscută de hemoglobină în soluţia de hemolizat, atunci se poate determina valoarea exactă a hemoglobinei. În aşa caz hemolizatul poate fi folosit ca control al exactităţii.

La determinarea concentraţiei hemoglobinei în sânge e necesar de a evita următoarele erori:

1) La colectarea sângelui:

a) folosirea pipetelor inexact calibrate (0,02 ml);

b) inexactitate la umplerea capilarului cu sânge;

c) inexactitate la pipetarea soluţiei fiziologice şi a sângelui.

2) La diluţie:

a) utilizarea pipetelor imprecis calibrate (5,0 ml);

b) vesela insuficient curată (urme de sânge);

c) insuficienţa clătirii cu reactiv;

d) inexactitate în pipetarea reactivilor;

e) utilizarea reactivilor cu termen expirat şi incorect pregătiţi.
3) La măsurări:
a) utilizarea utilajului necalibrat;
b) utilizarea cuvelor murdare şi nepereche;
c) tulbureala în probele examinate.

XV. MATERIALELE DE CONTROL PENTRU CALCULAREA NUMĂRULUI DE ERITROCITE

Sânge conservat. Sângele conservat poate fi păstrat timp îndelungat cu menţinerea tuturor proprietăţilor biologice şi funcţionale. Sângele conservat trebuie să se păstreze fără semne de hemoliză.

Pentru pregătirea sângelui conservat în calitate de stabilizator se folosesc anticoagulanţii pe baza cărora se prepară următoarele soluţii conservante (pH-ul soluţiilor este adus la valoarea necesară cu soluţie de NaOH 0,1 mol/l).

I	1) Citrat de sodiu - 2 g
	2) D(+) - Glucoza – anhidră 3,0 g,
	3) Levomicetina - 0,075 g (farm.)
	4) Apa bidistilată - până la 100 ml
	Se stabileşte pH-ul soluţiei 4,5 - 5,1

Sângele conservat se prepară prin adăugare la sânge a soluţiei conservante în raportul 4:1.

II	1) Acid citric -1,0 g
	2) D(+) - Glucoza – anhidră 3,0 g,
	3) Fosfat de sodiu - 0,75 g
	4) Apa bidistilată – până la 100 ml
	Se stabileşte pH-ul soluţiei 5,7 (5,5 – 6,0)

Raportul sânge-soluţie conservantă 4:1

III	1) Glucoza anhidră - 25,0 g
	2) Citrat de sodiu - 22,0 g
	3) Acid citric - 8,0 g
	4) Apa bidistilată – până la 100 ml
	Se stabileşte pH-ul soluţiei 6,4

Raportul sânge-soluţie conservantă 3:1

IV	1) Glucoza anhidră - 2,0 g
	2) Citrat de sodiu – 300,0 g
	3) Dihidrogenfosfat de sodiu anhidru - 0,15 g
	4) Apa bidistilată – până la 1000 ml
	Se stabileşte pH-ul soluţiei 6,9

Raportul sânge-soluţie conservantă 2:1

V	1) Glucoza anhidră – 20,5 g
	2) Citrat de sodiu – 8,0 g
	3) Acid citric - 0,55 g
	4) Clorura de sodiu - 4,2 g
	4) Apa bidistilată – până la 1000 ml
	Se stabileşte pH-ul soluţiei 6,1

Raportul sânge-soluţie conservantă 4:1.
În aceste soluţii eritrocitele conservate îşi păstrează proprietăţile funcţionale şi biologice câteva zile la

t + 20 °C, iar în frigider 20-30 zile.

Suspensia de eritrocite fixate. La fixarea eritrocitelor au loc schimbări fizico-chimice în membrană, protejând celula de lizare.

În calitate de fixator se propun: formaldehida, tanin, glutaraldehida, acid acetic glacial.

Practic se utilizează mai des metoda fixării cu glutaraldehidă. După fixare dimensiunile celulelor se schimbă timp de 3 - 4 zile, rămânând apoi stabile pe perioada de timp de la câteva luni până la câțiva ani.

Metoda preparării. Sângele se colectează într-un vas cu anticoagulantul trilon B (EDTA 5 mg la 1 ml sânge). Se spală de 3 ori cu soluție tampon fosfat în raport cu sânge 2:1, suspenzia se centrifughează 10 min la 3000 tur/min. Eritrocitele spălate se fixează cu soluție de glutaraldehidă 0,25% pregătită pe soluție fosfat tampon, care se adaugă treptat la eritrocite în raportul 1:10 (sânge:fixator).

Fixarea se efectuează la temperatura camerei timp de o oră. Eritrocitele fixate se spală de 3 ori cu apa distilată, și sunt completate până la volumul necesar cu apă sau soluție de glicină 12,5%, se adaugă 3 ml soluție de azotură de sodiu (NaN_3) 1%. Se agită minuțios 30 min și se toarnă în sticluțe câte 2 – 5 ml. Se păstrează la t + 4 °C. Înainte de a fi utilizat, materi-alul se ajută 10 min cu ajutorul unui agitator magne--tic. Suspensia preparată se păstrează în sticluțe întunecate la culoare în frigider la + 4 °C. Termenul păstrării: de la 6 luni până la un an. Suspensia se utilizează pentru controlul calității numărării eritrocitelor prin metoda automată sau prin metoda folosirii camerei de calcul.

Prepararea soluției tampon fosfat 154 mmol/l, pH 7,4: 0,246 g de dihidrogen fosfat de potasiu monovalent și 3,187 g de dihidrogen fosfat de potasiu bivalent cu 3 molecule de H_2O se dizolvă într-un balon cotat de 100 ml cu apă distilată.

XVI. FACTORII. CE POT LIMITA UTILIZAREA SÂNGELUI CONSERVAT ȘI CELULELOR FIXATE

1. Deficitul de sânge.
2. Eritrocitele fixate posedă o viscozitate mărită în comparație cu sângele (se lipesc de pereți în loc să treacă în stare de suspensie).
3. Celulele fixate își schimbă sarcina electrică ce poate influența asupra exactității rezultatelor în numărarea automată a celulelor.
4. Celulele fixate sunt mai rigide, ceea ce îngreunează trecerea lor prin orificiile analizatorului și schimbă amplituda undelor pulsatoare (in numărarea automată).
5. În primele 3-5 zile are loc micșorarea volumului eritrocitelor fixate, apoi dimensiunile lor rămân stabile în decurs de 6 luni.
6. Deficitul de reactivi (glutaraldehida și azotura de sodiu).

La numărarea celulelor sângelui e necesar de a evita următoarele erori:

1. La recoltarea sângelui:

a) utilizarea pipetelor inexact calibrate;

b) pipetarea și diluția sângelui inexactă;

c) recoltarea insuficient rapidă a sângelui și amestecarea lui cu reactivul pentru dizolvare.

2. La diluție:

a) pipetarea inexactă a reactivului pentru diluție;

b) utilizarea pipetelor și ustensilei murdare;

c) utilizarea pipetelor inexact calibrate;

d) utilizarea reactivului necalitativ pentru calibrare, ce poate provoca hemoliza eritrocitelor.

3. La măsurare:

a) nerespectarea regulilor de pregătire a camerei de numărat;

b) nerespectarea intervalelor de timp la numărarea eritrocitelor necesare pentru sedimentarea celulelor în camera de numărat;

c) agitarea insuficientă a sângelui înainte de umplerea camerei de numărat;

d) numărarea celulelor într-o cantitate insuficientă de pătrate și nerespectarea regulilor de numărare;

e) utilizarea dispozitivului necalibrat în numărarea automată a celulelor.

Metoda păstrării frotiurilor pentru microscopia repetată. La 0,5 ml clei BF - 6 se adaugă 3 ml alcool absolut, 3 ml alcool butilic, minuțios se agită până ce soluția devine transparentă pal gălbuie. Amestecul obținut se păstrează în sticluțe cu dop rodat.

Pe lamelă cu frotiu se pipetează o picătură mare de amestec - formator de peliculă și, balansând lamela, amestecul se întinde uniform pe suprafața lamelei. Surplusul de amestec de la margina lamelei se îndepărtează și preparatul se plasează în poziție orizontală pentru uscare. La temperatura camerei pelicula se usucă în 15-20 minute.

Pentru accelerarea uscării frotiul poate fi instalat în termostat la 60 °C.

7.2 Controlul calității investigațiilor sistemului de coagulare și fibrinoliză

Principii generale

Unul din criteriile principale al exactității rezultatelor sistemului de coagulare și fibrinoliză este controlul calității acestor investigații. Controlul calității investigațiilor sistemului de hemostază are specificul sau. El e condiționat de:

1) principiile metodelor utilizate în cercetarea sistemului de coagulare și fibrinoliză;
2) determinarea componentului final – fibrinei;
3) reactivii folosiți în cadrul examinării.

În realizarea controlului calității investigațiilor efectuate de laboratoarele clinice se utilizează un șir de criterii stabilite de STAS 16263-70 "Sistemul de Stat unic de măsurări. Metrologia. Termenii și determinările".

Exactitatea măsurărilor - este o calitate a măsurărilor, ce reflectă apropierea rezultatelor obținute de valoarea veridică. O precizie înaltă a măsurărilor va evita toate tipurile de erori atât sistematice, cât și întâmplătoare.

Precizia măsurărilor - este o calitate a măsurărilor, care reflectă asemănarea rezultatelor măsurărilor, efectuate în aceleași condiții.

Reproductibilitatea măsurărilor - este o calitate a măsurărilor, care reflectă asemănarea rezultatelor măsurărilor, efectuate în condiții diferite.

Corectitudinea măsurărilor - este o calitate a măsurărilor, care reflectă apropierea erorilor sistematice de "zero".

Controlul intra-laborator al calității

Asupra rezultatelor finale în urma testării sistemului de coagulare și fibrinoliză influențează 4 grupe de factori:

1. Condițiile de recoltare și pregătire a probelor.
2. Calitatea reactivilor utilizați.
3. Pregătirea și trasarea curbelor etalon.
4. Procesele de măsurare a probei.

Recoltarea, păstrarea și pregătirea probelor

Pentru cercetarea capacității de coagulare a sângelui se utilizează sânge venos, obținut prin puncția venei la scurgere liberă.

Comprimarea venei timp îndelungat poate provoca activarea enzimelor și creșterea numărului de trombocite. Mecanismul de coagulare al sângelui se activează la recoltarea lentă a sângelui venos și cel capilar.

În caz când sângele se recoltează prin cateter, primele 20 mkl se înlătură și se colectează probele pentru examenul hemostazei. Dacă rezultatele indică prezența heparinei în probe, atunci se repetă recoltarea cu înlăturarea primelor 30 mkl de sânge. La recoltare sângele trebuie să se prelingă pe peretele eprubetei.

Imediat în eprubetă se adaugă cantitatea necesară de anticoagulant, eprubeta se astupă și se răstoarnă atent de 3-4 ori. În calitate de anticoagulant se recomandă de a folosi citrat de sodiu 3,8% ($Na_3C_6H_5O_7$

5,5 H_2O). Oxalatul, heparina şi Trilonul B sunt folosite mai rar. Sângele colectat pe oxalat provoacă instabilitatea factorilor de coagulare, iar heparina şi Trilonul inhibă procesul de coagulare, influenţând la determinarea punctului final – formarea cheagului de sânge.

Cantitatea standard de citrat de sodiu, folosită pentru stabilizarea sângelui, nu poate fi utilizată în cazurile abaterii hematocritului de la normă, deoarece citratul de sodiu şi alţi stabilizatori nu pătrund în interiorul celulei şi rămân în plasmă. În aşa caz e necesar de a respecta exact raportul între volumul de sânge şi stabilizator în dependenţă de valoarea hematocritului: cu cât e mai mare valoarea hematocritului cu atât e mai mică cantitatea de anticoagulant (tabel 7.7).

Tabel 7.7

Raportul între volumul de sânge şi soluţia de anticoagulant în dependenţă de valoarea hematocritului

Valoarea hematocritului, %	Soluţia de anticoagulant, ml	Volumul sângelui cu anticoagulant, ml
20	1,4	10,0
22 – 26	1,3	10,0
28 – 32	1,2	10,0
34 – 38	1,1	10,0
40 – 44	1,0	10,0
46 – 50	0,9	10,0
52 – 56	0,8	10,0
58 – 60	0,7	10,0
Mai mare de 65	0,5	10,0
Pentru noi născuţi	0,15	5,0

Pentru a stopa activarea sistemului de coagulare şi fibrinoliză şi pentru a preîntâmpina eliberarea factorilor trombocitari din trombocite, probele recoltate se păstrează la temperatura de 4 8 °C. Pentru cercetarea funcţiilor trombocitelor plasma se păstrează la t +14-18 °C. După recoltarea sângelui probele se recomandă de a fi centrifugate timp de 60 min. Viteza şi timpul de centrifugare se determină în dependenţă de scopul cercetării. Plasma bogată în trombocite se obţine la centrifugarea sângelui cu viteza 1000-1500 tur/min timp de 10 min; plasma fără trombocite - la centrifugarea sângelui cu viteza 4500 tur/min timp de 20 min. După centrifugare plasma se separă de eritrocite cu o pipetă cu vârful din material plastic de unică folosinţă. Se recomandă de a verifica proba la prezenţa cheagului. Eprubetele cu plasma separată se recomandă de a fi închise cu dopuri, pentru a evita pierderea de bioxid de carbon (CO_2) şi cresterea pH-ului.

Determinarea timpului de protrombina (TP) se efectuează de obicei în sângele venos. Însă în cazul, când determinarea TP se efectuează repetat la unul şi acelaşi pacient, în scopul evitării traumatizării venei pacientului, probele de sânge pot fi colectate din deget, adică se determină TP în sângele capilar. În aceste cazuri, trebuie de luat în consideraţie faptul, că sângele capilar poate conţine o cantitate necontrolată de tromboplastină tisulară, care va influenţa neapărat asupra rezultatului analizei; de-asemenea e dificil de a ţine cont de valoarea hematocritului, iar nerespectarea raportului microvolumelor de sânge şi anticoagulant pot provoca la rândul lor erori.

Pentru alcătuirea curbei etalon în calitate de material de referinţă se utilizează amestecul de plasmă proaspăt recoltată de la cel puţin 7 donatori. Acest material de control nu este suficient de sigur în comparaţie cu globulina antihemofilică, amestecul de plasmă cel mai des posedând o activitate variată.

O altă problemă o constituie obţinerea plasmei complet eliberate de trombocite. Modul de preparare al ei nu exclude pătrunderea factorilor trombocitari în plasmă, iar prezenţa lor poate denatura considerabil rezultatele finale. Prin aceste fapte se explică dispersia datelor obţinute la cercetarea plasmei donatorilor uneia şi aceleiaşi serii, efectuată în probe paralele.

Rezultatele probelor icterice şi lipemice pot conţine erori cauzate de interferenţa acestora în deosebi în cazul utilizării metodelor automate şi semiautomate bazate pe determinarea punctului final.

La efectuarea testelor coagulologice o importanţă deosebită trebuie acordată preciziei pipetării atât a probei cât şi a reactivilor, de aceea se recomandă de a folosi în procesul de lucru pipete digitale mecanice

sau electronice cu vârfuri de unică folosinţă. Pe parcursul procesului de lucru e necesar de a respecta regulile de lucru cu pipetele, evitând impurificarea probelor şi reactivilor.

Sticlăria trebuie sa fie curată şi de dimensiuni standard. Detergenţii, ce conţin solvenţi organici, şi cremele pentru mâini, ce conţin silicon pot lăsa urme de grăsimi sau forma un strat de grăsime, care devin insolubile pe eprubete şi, astfel, pot prelungi timpul de formare al cheagului. Ca rezultat apar dificultăţi la determinarea TP sau timpului parţial de tromboplastină (TPT). E interzis de a folosi eprubete cu zgârieturi sau cu pâclă. Nu se recomandă de a prelucra eprubetele cu amestec cromic, deoarece acidul schimbă structura sticlei, având aceiaşi influenţă ca şi siliconul. Timpul parţial de tromboplastină se va prelungi dacă testarea se va efectua în eprubete spălate cu amestec sulfocromic.

Sticlăria destinată pentru testele coagulologice nu trebuie folosită în alte scopuri. Sticlăria utilizată în testarea sistemului de hemostază se recomandă de a fi spălată cu soluţie de acid clorhidric 3 % şi minuţios clătită cu apă.

Controlul calităţii funcţionării aparatajului

Baia de apă şi incubaţia. Valorile normale pentru majoritatea testelor sistemului de coagulare se stabilesc, utilizând baia de apă la temperatura 37±1°C. Dacă este utilizat aerul uscat atunci e necesar de a stabili timpul de incubaţie, deoarece aerul uscat are o conductibilitate mai joasă decât apa. De exemplu, pentru incubaţia a 0,2 ml de plasmă la temperatura de 37- °C cu aer uscat e nevoie de 8 minute, pe când în baia de apă e nevoie doar de 90 secunde. E necesar de a respecta strict timpul de incubaţie; supraîncălzirea dă rezultatele prolongate. Înainte de utilizare e necesar de a verifica temperatura băii de apă, utilizând termometre precise, verificate.

Pentru fiecare laborator de diagnostic e necesar de a elabora şi de a implementa un program al controlului calităţii aparatajului utilizat, care include controlul şi evidenţa stării tehnice a frigiderelor, băilor de apă, termostatelor, pipetelor, taimerilor şi de-asemenea a calităţii apei distilate (puritatea, valoarea pH). În anexe sunt indicate formularele de înregistrare a datelor controlului calităţii aparatajului, sticlăriei, purităţii apei distilate.

Determinarea exactă a timpului. Cronometrul se porneşte din momentul adăugării soluţiei de $CaCl_2$ sau plasmei şi se opreşte când apar primele fibre de fibrină (reţeaua de fibrină). Eprubeta se înclină atent, întrucât deteriorarea reţelei de fibrină poate prelungi timpul de coagulare.

Controlul calităţii reactivilor. Una din condiţii care asigură testarea probelor este stabilitatea şi siguranţa reactivilor.

Testarea sistemului de coagulare şi fibrinolizei se efectuează cu un număr divers de reactivi specifici, care condiţionat pot fi împărţiţi în 3 grupe: biologici, sintetici şi micşti.

Grupul de reactivi biologici includ reactivii obţinuţi din diverse ţesuturi umane şi animale. În grupul de reactivi sintetici întră substanţele cromogene de natură polipeptidică. Grupul de reactivi micşti includ amestecurile de reactivi biologici şi sintetici. Ţinând cont de provenienţa biologică a reactivilor cel mai des utilizaţi în coagulologie (de pildă tromboplastina, cefalina, etc.), o problemă deosebit de importantă devine standardizarea procedeelor de obţinere a acestor reactivi. Pentru obţinerea tromboplastinei şi a cefalinei, se folosesc ţesuturile creierului uman, iepurelui de casă şi ţesutul plămânilor de iepure. S-a observat însă, că la utilizarea aceloraşi surse de obţinere a tromboplastinei şi aceleaşi tehnici se relevă divergenţe însemnate în rezultatele timpului de protrombină (TP).

Stabilitatea reactivilor. Toate soluţiile tampon şi saline se păstrează la temperatura de 0 + 4°C, rămânând stabile până la momentul infectării bacteriene. Majoritatea reactivilor de provenienţă biologică se păstrează la temperatura de – 20°C (e preferabil chiar la – 80°C). În aşa condiţii stabilitatea reactivilor se menţine până la 1 an. După dezgheţare reactivii se păstrează pe gheată şi se utilizează pe parcurs de câteva ore. Pentru dizolvarea reactivilor se foloseşte apa distilată proaspăt pregătită sau apa deionizată (pH-ul mai mic de 6,0). Reactivii se pregătesc conform instrucţiunilor, care însoţesc seturile de reactivi.

Standardizarea tromboplastinei. Pentru a obţine rezultate precise, fiecare serie de tromboplastină trebuie neapărat supusă testărilor. În acest scop se determină limitele de referinţă, examinând 20 de donatori; se calculează media aritmetică *($\overline{X}$)* şi abaterea mediei pătratice *(S)*. Deoarece sunt comercializate diferite tipuri de tromboplastină, pentru a obţine rezultate comparabile se utilizează preparate de

tromboplastină standardizate - probe etalon, care sunt calibrate după preparatele de tromboplastină de referinţă internaţionale ale OMS. Activitatea lor se exprimă prin coeficientul internaţional de sensibilitate *(CIS)*. De aceea, timpul de protrombină *(TP)* se exprimă nu în secunde, dar prin aşa numitul "raport normalizat internaţional" *(RNI)* după formula:

$RNI = TR^{CIS}$, unde:

RNI - raport normalizat internaţional;

TP - timpul de protrombină;

CIS - coeficientul internaţional de sensibilitate.

De exemplu:

TP a plasmei pacientului: 45 s.

TP amestecului de plasma normală de donatori: 12,7 s.

CIS indicat în instrucţiunea anexată la flaconul cu tromboplastină: 1,08.

$$RNI = TR\left[\frac{45}{12,7}\right]^{CIS} = 3,54^{1,08} = 3,92;$$

Deci, raportul normalizat internaţional a plasmei pacientului *RNI* este egal cu 3,92. Această valoare permite de a compara rezultatele cercetărilor, efectuate în diferite laboratoare.

PRINCIPIILE CONTROLULUI CALITĂŢII

Controlul intra-laborator al calităţii investigaţiilor sistemului de coagulare şi fibrinoliză poate fi efectuat prin metode diverse, utilizând materiale de control şi metodele statistice. Cea mai folosită este metoda probelor de control.

Controlul intra-laborator al calităţii include controlul exactităţii, reproductibilităţii şi corectitudinii. Acest control practic trebuie să includă orice parametru coagulologic, care poate fi exprimat cantitativ. Zilnic laborantul sau medicul de laborator, care testează parametrii coagulologici, paralel testează şi materialul de control. Testarea materialului de control se efectuează cu aceleaşi metode, care se utilizează în laboratorul dat. Controlul reproductibilităţii rezultatelor se efectuează în prealabil pentru a stabili limitele abaterilor posibile şi a trasa harta de control. Pe parcursul a 20 de zile se fac măsurări a materialului de control în 2-3 probe paralele. Se calculează media aritmetică *(*$\overline{X}$*)* şi devierea mediei pătratice *(S)*.

Pentru a evita erorile grave se calculează criteriul T:

$$T = \frac{Xn - \overline{X}}{S}, \text{ atunci când } Xn \geq \overline{X}; \qquad T = \frac{\overline{X} - Xn}{S}, \text{ atunci când } \overline{X} \geq Xn; \text{ unde}$$

Xn - rezultatele măsurării probelor paralele ale materialului de control;

$\overline{X}$ - media aritmetică;

S - devierea mediei pătratice.

Limita siguranţei criteriului *T* depinde de probabilitatea stabilită a erorii şi de numărul n.

Pentru á = 5% şi n = 10, *T* = 2,23.

Pentru á = 5% şi n = 20, *T* = 2,62.

Dacă valoarea lui T depăşeşte limita siguranţei, atunci rezultatul suspect se exclude, se repetă investigaţia şi se efectuează recalcularea mediei aritmetice *()* şi abaterii mediei pătratice *(S)*.

Pentru alcătuirea hărţii de control se calculează limitele de control () care pot fi considerate limitele exactităţii rezultatelor obţinute.

Pentru caracterizarea coincidenţei şi reproductibilităţii rezultatelor se calculează devierea mediei pătratice (S) şi coeficientul de variaţie V:

$$V = \frac{S}{\overline{X}} \times 100\%;$$

Pentru calcularea limitei permise a erorii *(LPE)* se utilizează formula lui Tonx:

$$LPE = \frac{1/4\ diapazonul\ \lim itelor\ normale}{valoarea\ medie\ a\ \lim itelor\ normale} \times 100\%$$

Coeficientul obţinut *(LPE)* se compară cu coeficientul de variaţie *(V)*. Dacă $V > LPE$, atunci reproductibilitatea rezultatelor este nesatisfăcătoare, şi se recomandă de a repetă testarea materialului de control, deoarece limitele de control obţinute sunt prea mari, şi în aşa caz controlul calităţii nu-şi va îndeplini scopul.

După calcularea limitelor de control se alcătuieşte harta de control, care reprezintă sistemul de coordonate unde pe abcisă se notează zilele cercetării iar pe ordonată concentraţia componentului cercetat în unităţile corespunzătoare de măsură. Paralel abscisei sunt trasate linii drepte care indică media aritmetică şi limitele de control + 2S.

Fiecare rezultat obţinut ulterior la cercetarea materialului de control, se notează pe hartă în formă de punct şi se foloseşte pentru aprecierea reproductibilităţii rezultatelor componentului dat. Lucrând cu harta de control se ţine cont de posibilitatea apariţiei criteriilor preventive şi criteriilor de control.

Controlul concomitent al exactităţii şi corectitudinii se efectuează testând de repetate ori materialul de control din aceeaşi serie în aceleaşi condiţii şi se calculează şi S.

Ca criteriu statistic al exactităţii rezultatelor cercetării serveşte gradul devierii mediei aritmetice de la valoarea veritabilă (nominală) pentru componentul dat. Pentru aprecierea corectitudinii valoarea mediei aritmetice obţinută se compară cu datele indicate în paşaportul materialului de control. Daca rezultatele obţinute se încadrează în limitele permise indicate în paşaport, atunci corectitudinea cercetărilor se consideră satisfăcătoare. În caz contrar e necesar de a estima autenticitatea diferenţelor rezultatelor, utilizând criteriile statistice (testul Stiudent, etc.).

Aprecierea exactităţii se efectuează prin compararea coeficientului de variaţie (V) cu limita permisă a erorii (LPE). Coeficientul de variaţie trebuie sa fie mai mic, decît LPE.

Materialele de control. În calitate de material de control se utilizează amestec de plasmă cu timpul de coagulare normal şi prelungit, care se toarnă în flaconaşe şi repede se îngheaţă. Principala cerinţă faţă de plasma de control este lipsa completă a eritrocitelor şi a urmelor de hemoliză.

Zilnic plasma de control se dezgheaţă şi se cercetează la începutul lucrului şi peste fiecare 20 de probe. Se recomandă de a examina nu mai puţin de o probă de material de control cu timp prelungit de coagulare. Fiecare rezultat cu devieri patologice al pacienţilor de-asemenea se controlează paralel cu o plasmă de control cu timpul de coagulare prelungit. Fiecare probă şi plasmă de control se cercetează în probe paralele. În cazul când diferenţa dintre probele paralele depăşeşte 3 s, testarea se repetă, utilizând sângele proaspăt al pacientului.

LISTA MATERIALELOR DE CONTROL PENTRU INVESTIGAŢIILE COAGULOLOGICE

1. Amestec de plasmă proaspătă recoltată de la mai mulţi donatori (nu mai puţin de 20 persoane).
2. Plasma umană liofilizată standardizată pentru calibrare.
3. Plasma umană de control cu conţinut exact ai factorilor de coagulare (normal şi patologic).
4. Plasma de control cu deficitul factorilor de coagulare:

4.1. Pentru sistemul intrinsec
- plasma cu deficitul f VIII
- plasma cu deficitul f IX
- plasma cu deficitul f XI
- plasma cu deficitul f XII

4.2. Pentru sistemul extrinsec
- plasma cu deficitul f II
- plasma cu deficitul f V
- plasma cu deficitul f VII
- plasma cu deficitul f X

5. Plasma de control pentru verificarea limitei de sus şi limitei de jos a zonei terapeutice la administrarea anticoagulanţilor.

METODE CARE NU NECESITĂ MATERIALE DE CONTROL

Se folosesc două metode: **metoda probelor paralele** şi **metoda mediei valorilor normale**. Ele permit de a evalua reproductibilitatea rezultatelor obţinute folosind plasma colectată de la pacienţi.

Metoda probelor paralele. Se selectează 10 probe la întâmplare şi se cercetează fiecare proba în paralel (tabelul 7.8). Se determină diferenţa între rezultatele fiecărei perechi şi se ridică la pătrat; se calculează suma diferenţelor pătratelor şi se împarte la 2n (n - numărul de perechi). Se calculează devierea mediei pătratice (S) şi limitele de control $0 \pm 2S$. Harta de control se alcătuieşte analogic celei descrise pentru probele de control. Zilnic pe hartă se notează prin punct diferenţa rezultatelor aceleaşi probe cercetată în paralel, astfel apreciindu-se exactitatea rezultatelor testului cercetat. Rezultatele, ce depăşesc limitele de control, demonstrează cu probabilitatea până la 95% prezenţa unor abateri în sistemul analitic. În aşa caz se recomandă de a efectua următoarele măsuri:

1. Controlul temperaturii băii de apă (37 ± 1 °C).
2. Controlul pipetelor (exactitatea calibrării).
3. Controlul molarităţii soluţiei de $CaCl_2$.
4. Investigarea sângelui a unui alt donator.
5. Dizolvarea unui nou flaconaş cu tromboplastină (sau dezgheţare) şi repetarea testării.
6. Controlul şi corecţia valorii pH-ului amestecului de reagenţi care trebuie să fie egal cu 7,4.
7. Rezultatele nu se eliberează până nu se obţin date, care se încadrează în limitele de control.

Tabelul 7.8

Estimarea reproductibilităţii rezultatelor obţinute în urma determinării timpului de protrombină în probe paralele

Nr d/o	A	B	D	D^2
1	12	10	2	4
2	14	11	3	9
3	12	13	1	1
4	13	15	2	4
5	13	10	3	9
6	14	16	2	4
7	14	15	1	1
8	13	11	2	4
9	12	14	2	4
10	13	15	2	4

$$\sum d^2 = 44; \quad S = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{\frac{44}{20}} = \sqrt{2,2}; \quad S = \sqrt{2,2} = 1,41;$$

Limitele de control = $0 \pm 2S$ = - 2,82 până la + 2,82; A şi B - rezultatele determinării timpului de protrombină în 2 probe paralele;

d - diferenţa între probele paralele A şi B ;

n - numărul de perechi.

Metoda mediei valorilor normale. Se bazează pe analiza statistică a rezultatelor obţinute în urma cercetării probelor colectate de la pacienţi.

Se presupune că, efectuând testarea prin aceeaşi metodă a nu mai puţin de 30 de probe ale pacienţilor pe zi sau pe parcursul a câtorva zile, obţinem o valoarea medie stabilă a rezultatelor analizelor. Dacă pe

parcursul procesului de testare se va comite o eroare sistematică, acest fapt se va reda prin abaterea valorii medii a rezultatelor.

Pentru alcătuirea hărţii de control, bazată pe media valorilor normale pe parcurs de 20 de zile se calculează media valorilor normale a componentului dat; zona normală - în limitele $\overline{X}$ 2S.

În continuare se calculează , S şi m - eroarea medie:

$$m = \frac{S}{\sqrt{n}}$$, unde

n - numărul de valori normale în grupa cercetată.

După construirea hărţii de control cu limitele de control 2m, zilnic se determină media rezultatelor normale şi se notează pe hartă.

Sensibilitatea metodei se află în dependenţă directă de numărul de rezultate incluse în calculul mediei. Metoda mediei valorilor medii normale permite de a depista rezultatele eronate, care nu pot fi depistate prin alte metode, fiind o metodă efectivă de control la toate etapele de investigare - de la recoltarea probei până la eliberarea rezultatelor.

Aceasta metodă se recomandă ca metodă suplimentară la metoda probelor de control.

Erorile comise la recoltarea probelor de sânge:

1) punctarea incorectă a venei;
2) plasmă cu hemoliză;
3) raportul incorect între sânge şi anticoagulant;
4) prezenţa lichidului tisular;
5) prezenţa cheagului de sânge;
6) prezenţa heparinei.

Erorile de laborator:

1) cântărire şi dozare incorectă a reactivilor;
2) utilizarea reactivilor cu termen expirat;
3) utilizarea aparatajului defectat;
4) confundarea probelor;
5) înregistrarea incorectă a rezultatelor.

Evaluarea externă a calităţii. O altă formă a controlului calităţii investigaţiilor este evaluarea externă a calităţii, adică controlul inter-laborator al calităţii, care fiind un sistem obiectiv de control al calităţii investigaţiilor de laborator, rezolvă următoarele probleme:

1) compară calitatea lucrului efectuat de toţi participanţii sistemului de control;
2) depistează erorile sistematice, întâmplătoare şi grave în rezultatele datelor de control;
3) apreciază calitatea aparatajului utilizat;
4) contribuie la ameliorarea deservirii pacienţilor şi perfecţionarea lucrului laboratoarelor de diagnostic clinic.

Cercetarea probelor de control se efectuează prin includerea lor în regimul obişnuit de cercetare a materialului biologic, prelevat de la pacienţi. Se efectuează de acelaşi personal care îndeplineşte aceste testări zilnic, cu metodele care se lucrează în laboratorul dat.

PREGĂTIREA MATERIALULUI DE CONTROL PENTRU PROGRAMUL DE APRECIERE EXTERNĂ A CALITĂŢII INVESTIGAŢIILOR

Prepararea plasmei liofilizate normale

1. Într-un vas de material plastic de 500 ml ce conţine 50 ml soluţie citrat de sodiu 4% se introduc 450 ml de sânge de donator.

2. Se centrifughează 50 min la 1600 turaţii, plasma se decantează şi se centrifughează din nou 30 min.

3. Plasma se transferă într-un vas de masă plastică. Pentru a evita schimbarea pH-ului se adaugă HEPES (N-2- hidroxietilpiperazin-N-2-etansulfoacid), reieşind din calculul 1,19 g HEPES la 100 ml plasmă sanguină.

4. Agitând continuu, plasma se toarnă în flacoane siliconate de 5,0 ml, câte 1,0 ml plasmă în fiecare flacon.

5. Flacoanele cu plasmă se liofilizează în vid la presiunea 15-25 mm Hg la temperatura minus 50 °C timp de 20 de ore.

6. Flacoanele se închid ermetic.

Prepararea plasmei cu timpul de protrombină prelungit

Etapele 1, 2, 3 sunt analogice cu cele descrise în metoda precedentă. Aproximativ 35% de plasmă este rezervată pentru etapa 6.

4. Se amestecă o parte de hidroxid de aluminiu şi 9 parţi de plasmă cu tampon HEPES. Se agită prin răsturnare timp de 3 min la t +4 °C.

5. Amestecul se centrifughează la 1600 turaţii/min timp de 30 min. Supernatantul de plasmă se centrifughează din nou timp de 30 min. Stratul inferior de plasmă (aproximativ 10%), se înlatură.

6. Plasma normală cu soluţie tampon HEPES de la etapa 3 se amestecă cu o cantitate mică de plasma adsorbită obţinută la etapa 5.

Raportul plasmelor amestecate depinde de valoarea dorită necesară a timpului de protrombină, în proba obţinută.

De exemplu: dacă la 20 ml plasmă normală se adaugă 60 ml plasmă absorbită, atunci amestecul de plasmă obţinut va avea timpul de protrombină 25 s.

Etapele 4, 5, 6 a metodei 1 se repetă.

Tabelul 7.9

Controlul temperaturii băii cu apă

Instituţia ______________________________

Adresa ________________________________

Data _____ Luna ________________ Anul ________

Data	Timpul	Laboratorul	33°	34°	35°	36°	37°	Alta
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								

27								
28								
29								
30								
31								

Măsuri speciale1. Curățirea 2. Controlul cu termometrul - etalon. Data_______
Forma de înregistrare zilnică a temperaturii în baia de apă și termostate.

Controlul sticlăriei

Anul _________ Se completează săptămânal

Data	Curățenia generală	Urme de apă	Urme de detergent

Obiecții:_______________________________________ Forma de înregistrare a rezultatelor controlului curățeniei veselei de sticlă.

Controlul calității apei

Anul _________ Se completează săptămânal

Data	Rezistența specifică		

Obiecții:_______________________
Forma de înregistrare a controlului purității apei.

7.3 Indicații metodice pentru înfăptuirea controlului calității explorării urinei

I. PRINCIPII GENERALE

Exactitatea rezultatelor investigațiilor urinei depinde, în fond, de calificarea laborantului, echipamentul utilizat, reactivi și de metodele de investigare.

Pentru obținerea rezultatelor exacte și reproductibile ale examinării compoziției chimice a urinei, se utilizează materiale de control asemănătoare, după componența lor, cu eșantioanele de urină ale pacienților și frotiuri de control pentru controlul calității investigațiilor microscopice a sedimentului urinar.

Concentrația substanțelor cercetate în materialul de control trebuie să corespundă sensibilității metodei de investigare utilizate. Materialele de control, ce conțin concentrații mari de substanțe, pot da reacții fals pozitive chiar și cu reactivi alterați sau stripurile pentru testele expres. Una din sarcinile importante ale controlului investigațiilor urinei tocmai și constă în relevarea până și a unei pierderi mici a sensibilității metodei ce se studiază (mai ales în probele calitative).

În calitate de material de control, în controlul compoziției chimice a urinei sunt utilizate:

1) Soluții apoase de substanțe;
2) Urina amestecată cu conservanți;
3) Soluții artificiale de urină cu adaos de substanțe care trebuiesc determinate în urină.

Metodele de pregătire a materialelor de control sînt prezentate mai jos.

Preparatele de control pentru microscopia sedimentului urinar trebuie să conţină: sărurile întâlnite în urină, celule epiteliale polimorfe, diferite tipuri de cilindri, leucocite, eritrocite, bacterii patogene şi nepatogene, levuri, paraziţi ai animalelor. De-asemenea e raţional de a dispune de preparate cu sedimente urinare caracteristice pentru cele mai răspândite afecţiuni.

II. METODELE DE PREPARARE A MATERIALELOR DE CONTROL

1. PREPARAREA SOLUŢIILOR APOASE DE SUBSTANŢE

1.1.Destinaţie

Soluţiile apoase de substanţe cu conţinut cunoscut sunt utilizate pentru controlul calităţii investigaţiilor de identificare sau determinare a componenţilor urinei (de exemplu, soluţie de glucoză, de uree, de albumină).

1.2. Reactivi

Se utilizează reactivi de calificarea: "puritate chimică" şi "puritate analitică". Pentru prepararea soluţiilor de reactivi se foloseşte apa distilată, ce corespunde STAS 6709 - 72.

1.3. Metodele de investigaţie

Se utilizează metode de investigare, folosite în laborator, atât calitative cât şi cantitative pentru determinarea substanţelor corespunzătoare.

1.4. Modul de preparare

Regulile de preparare a soluţiilor apoase de substanţe sunt indicate în manualele de tehnică a lucrărilor de laborator şi în indicaţiile metodice de utilizare a metodelor standardizate de cercetări în laboratoarele clinice.

1.5. Condiţiile de păstrare, termenul de valabilitate. Soluţiile se păstrează la t +4 - +8 °C în frigider: pentru mărirea termenului de valabilitate la unele soluţii se adaugă azotura de sodiu.

2. PREPARAREA URINII AMESTECATE

2.1. Destinaţie

Urina amestecată se utilizează în calitate de material de control pentru controlul calităţii explorării compoziţiei chimice a urinei.

2.2. Reactivi

1. Urina amestecată (umană), 1 l.
2. EDTA, «puritate chimică», 2,0 g.
3. Alcool izopropilic, «puritate chimică» , 1 l.
4. Soluţie de timol, 5 ml (100 g de timol se dizolvă într-un litru de alcool izopropilic).

2.3. Metodele de cercetare

Se utilizează metodele de explorare, folosite în laborator, atât calitative cât şi cantitative pentru cercetarea componenţilor chimici în urină.

2.4. Modul de preparare

La 1 l de urină (umană) proaspătă se adaugă 2,0 g de Trilon B (EDTA) şi la o agitare energică, se adaugă 5,0 ml soluţie de timol. Peste 2 săptămâni urina se centrifughează pentru înlăturarea mucusului şi a urmelor de acid uric. După prelucrare urina devine transparentă şi fără miros.

2.5. Condiţiile de păstrare, termenul de valabilitate

Materialul de control se păstrează la temperatura camerei, termenul de întrebuinţare – 2 ani.

3. PREPARAREA SOLUŢIILOR DE CONTROL, CE IMITĂ URINA

3.1. Soluţie de control nr.1

3.1.1. Destinaţie

Se utilizează în calitate de material de control pentru controlul calităţii explorării compoziţiei chimice a urinei.

3.1.2. Reactivi

1. Clorură de sodiu, «pură», «puritate analitică sau chimică».
2. D(+)-Glucoză anhidră, «pură», «puritate analitică».
3. Uree, «pură», «puritate analitică».
4. Acetonă, «pură», «puritate analitică».

5. Sânge integral cu hematocritul 40-45%.

6. Proteinele serului sanguin. Se utilizează serul pacien-tului cu conţinutul determinat de proteină totală sau ser de control.

7. Cloroform, «puritate farmacopeică».

3.1.3. Metodele de cercetare

Se utilizează metode de analiză calitativă a compuşilor chimici din urină.

3.1.4. Modul de preparare

Într-un balon cu fund rotund de 2 l se toarnă 10 g clorură de sodiu, 10 g uree, 1 g glucoză şi 4,0 ml acetonă, se adaugă 500 ml apă şi se agită până la dizolvarea completă (tabel 1).

La soluţia obţinută se adaugă 0,2 ml sânge integru, 0,8 g proteină serică. Pentru calculul cantităţii necesare de ser, se utilizează următoarea formulă:

$$Volumul\ (V)\ de\ ser = \frac{100 \times 0{,}8}{Continutul\ de\ proteina\ in\ serul\ utilizat};$$

Exemplu: Dacă concentraţia de proteina este de 7,5 g/l în serul utilizat, atunci volumul (V) necesar de ser, ce conţine 0,8 g proteine, va fi:

$$V = \frac{100 \times 0{,}8}{7{,}5} = 10{,}7;$$

La amestecul obţinut se adaugă apă distilată până la 2 l şi se agită puternic. Ca conservant serveşte cloroformul - 5,0 ml.

3.1.5. Condiţiile de conservare, termenul valabilităţii. Soluţia se păstrează la temperatura camerei într-un vas cu dop rodat, durata utilizării - un an.

Tabelul 7.10

Lista substanţelor adăugate şi concentraţia lor în soluţia finală

Substanţa	Cantitatea adaugată de substanţă	Concentraţia substanţei în soluţia de control
NaCI	10,0 g	-
Uree	10,0 g	83 mmol/l
Glucoza	1,0 g	2,775 mmol/l
Proteina	0,8 g	0,4 g/l
Hemoglobina (sânge ocult)	0,2 ml	Reacţia pozitivă
Acetonă	4,0 ml	Reacţia pozitivă

3.2. Soluţia de control Nr.2

3.2.1. Destinaţie

Soluţia de control Nr.2 este folosită în calitate de material de control pentru controlul calităţii investigaţiilor compoziţiei chimice a sedimentului urinar şi examinărilor microscopice ale sedimentului.

3.2.2. Reactivi

1. Dihidrogen fosfat de potasiu, ***(KH_2PO_4)***, 0,37 mol/l, «puritate chimică».
2. Hidrogen fosfat de sodiu ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$), 0,19 mol/l, «puritate chimică».
3. Ser sanguin, cu conţinut normal de proteine.
4. D(+) Glucoză anhidră, «pură», «puritate analitică».
5. Acetonă, «pură», «puritate analitică».
6. Hemolizat - la masa eritrocitară se adaugă un volum egal de apă distilată, se agită minuţios.
7. Eritrocite fixate.
8. Leucocite fixate din stratul străveziu al cheagului de sânge.
9. E. coli nepatogene fixate.
10. Celule fixate de drojdie.

11. Spermatozoizi fixați.
12. Cristale de cistină, obținute prin recristalizarea L-cistinei, «puritate chimică».
13. Cristale de tripelfosfat, obținute din sedimentele probelor de urină a pacienților.
14. Cristale de oxalat de calciu, obținute din sedimentele probelor de urină a pacienților.
15. Clorură de sodiu, 145 mmol/l, «pură», «puritate analitică», «puritate chimică».
16. Formalină, «puritate farmacopeică».

3.2.3. Metodele de cercetare

Se utilizează metode de cercetare a compoziției chimice și microscopice a sedimentului urinar.

3.2.4. Modul de preparare

Într-un balon cotat de 100 ml se iau: 12,2 ml KH_2PO_4, 11,6 ml , 5 ml ser sanguin cu conținut normal de proteine, 1,0 g glucoză, 0,5 ml acetonă, 0,1 ml hemolizat și se adaugă apă distilată până la semn. Se agită până la dizolvarea completă a substanțelor și se îngheață.

Pentru a obține sediment în materialul de control se adaugă componenții corespunzători, care în prealabil sunt fixați.

Metoda de fixare

Fiecare component, adăugat pentru formarea sedimentului urinar, se spală cu soluție fiziologică răcită și se amestecă cu soluție apoasă de formalină și soluție fiziologică (10,0 ml formalină + 0,85 g NaCl se aduce până la 100 ml cu apă distilată).

Fixarea se efectuează timp de 12 ore.

În materialul de control se adaugă 1,0 - 5,0 ml de material fixat.

3.2.5. Modul de păstrare și termenul de valabilitate.

Materialul de control se păstrează la temperatura - 20 °C.

Durata păstrării - până la 3 luni.

3.3. Soluția de control nr.3

3.3.1. Destinație

Se utilizează pentru controlul calității stripurilor diagnosti-ce.

3.3.2. Reactivi

1.Glucoză (pentru injecții intravenoase).
2. Acetonă, «pură», «puritate analitică».
3. Ser uman amestecat.
4. Sânge integru - la 1 ml sânge integru se adaugă 0,1 ml apă distilată pentru lizarea eritrocitelor.
5. Acid clorhidric, 0,1 mol/l.
6. Clorură de sodiu, 152 mmol/l, «pură» , «puritate analitică», sau «puritate chimică».

3.3.3. Metode de cercetare

Se utilizează stripuri diagnostice și metode calitative.

3.3.4. Modul de preparare

Într-un balon cotat de 500 ml, se toarnă 200 ml apă distilată, 5 ml glucoză, 2 ml acetonă, 25 ml ser uman amestecat și 0,1 ml sânge lizat. Minuțios se agită și conținutul balonului se aduce până la semn cu soluție fiziologică. Pentru obținerea valorii pH = 6,0 se folosește soluția de HCl 0,1 mol/l.

3.2.5. Condițiile de păstrare, termenul de valabilitate. Soluția de control se păstrează în frigider. Durata valabilității - nu mai mult de o lună de zile.

4. PREPARAREA URINII AMESTECATE PENTRU INVESTIGAȚII TOXICOLOGICE

4.1. Destinație

Se indică în calitate de material de control pentru controlul calității investigațiilor toxicologice în urină.

4.2. Reactivi

1. Urina amestecată. Se iau probe de urină de la pacienți nefumători și care nu iau medicamente și se amestecă obținând un volum de 10 l. Pentru îndepărtarea impurităților străine urina amestecată se filtrează prin vată de sticlă. Se păstrează la +4- +7 °C.
2. Clorura de morfină, «puritate farmacopeică».

3. Sulfat de codeină, «puritate farmacopeică».
4. Clorura de chinină, «puritate farmacopeică».
5. Metadon, «puritate farmacopeică».
6. Fenobarbital de sodiu, «puritate farmacopeică».
7. Glutetimid, «puritate farmacopeică».
8. Amfetamină, «puritate farmacopeică».
9. Alcool absolut.

4.3. Metode de cercetare

Se utilizează metodele de cercetare a substanţelor toxice în urină, folosite în laborator.

4.4. Modul de preparare

O parte din urina amestecată se cercetează pentru identi-fi-carea preparatelor medicamentoase, cel mai des utilizate. Urina amestecată se utilizează numai în cazul reacţiei negative. Apoi se adaugă câte 20,0 mg de chinină, clorură de metadon, fenobarbital de sodiu şi glutetimid şi 30,0 mg de amfetamină. Glutetimida în prealabil se dizolvă în 3,0 ml de alcool absolut. Se agită bine şi se toarnă în stecluţe câte 10-15 ml.

4.5. Condiţiile de păstrare, termenul de valabilitate. Urina amestecată se păstrează la t - 20 °C (congelator). Durata valabilităţii - 8 luni. La utilizarea urinei amestecate în calitate de material de control sticluţa cu urină se lasă la temperatura de cameră până la topirea completă a conţinutului, apoi se cercetează paralel cu probele pacienţilor.

CAUZELE ERORILOR LA CERCETAREA URINEI

1. Determinarea densităţii relative cu ajutorul urometrului

1.Vasul în care se măsoară densitatea relativă a urinei trebuie să fie de dimensiuni ce va permite plutirea liberă a urome-trului. În caz contrar rezultatul va fi inexact.

2 La fixarea rezultatelor urometrul nu trebuie să se atingă de pereţii sau fundul vasului. Dacă cantitatea de urină nu e suficientă pentru plutirea liberă a urometrului, urina se dizolvă cu apă distilată de 2-3 ori, se determină densitatea şi se înmulţeşte cu gradul de diluţie.

3 La măsurarea densităţii relative a urinei o mare importanţă are temperatura mediului şi a urinei. Urometrele sunt adaptate la o anumită temperatură (15°C, 20°C, 22,5°C) indicată pe dispozitiv. Orice deviere a temperaturii mediului înconjurător de la cea indicată provoacă schimbarea volumului de urină, concentraţiei ei şi a densităţii relative.

Această condiţie se ia în consideraţie şi în caz de necesitate la măsurare, se face corecţia corespunzătoare la tem-pe-ratură. Exactitatea acestei metode este suficientă dacă se folosesc urometre verificate.

2. Determinarea densităţii relative cu ajutorul refractometrului

1. Deoarece indicele de refracţie se determină optic, prisma şi camera refractometrului trebuie să fie impecabil curate şi fără zgârieturi. După fiecare măsurare camera şi prisma se spală cu apă distilată, se şterg până la uscat cu o ţesătură nepufoasă. E interzis de a folosi gazul pentru uscare. Refractometrul se ţine sub husă pentru al proteja de praf.

2. Se determină indicele de refracţie cu soluţie de clorură de sodiu 5 ± 0,01%, indicele trebuie să fie 1,3415 ± 0,0005, sau după scara densităţii relative - 1,022 ± 0,001.

3. Identificarea proteinei în urină prin metode, bazate pe sedimentarea proteinelor

1.Urina cercetată trebuie să aibă o reacţie acidă. Urina alcalină se acidulează puţin cu acid acetic. Cercetarea urinei cu reacţie alcalină în cazurile, când în calitate de reactiv se utilizează acid, poate provoca neutralizarea acidului, şi la rezultat negativ în cazul reacţiei pozitive.

2. Urina cercetată trebuie să fie transparentă. Opalescenţa se înlătură prin metode, ce nu provoacă sedimentarea proteinelor. Cercetarea urinei opalescente nu permite delimitarea turbidităţii anterioare, de cea obţinută la sedimentarea proteinelor.

4. Cercetarea sângelui ocult

Efect similar hemoglobinei au şi: clorofila, mioglobina, preparatele fierului şi alte impurităţi întâmplătoare, îndeosebi sărurile metalelor grele (crom, cupru, etc.). În procesul de lucru e strict necesar de a folosi ustensila curată şi reactivi calitativi. Rezultat fals-pozitiv se obţine în urma

administrării sărurilor de iodură şi bromură de potasiu. Prezenţa acestor săruri în urină se depistează după culoarea albastră, obţinută în urma amestecării urinei cu acid acetic, peroxid de oxigen, soluţie de amidon. Urina, care conţine o cantitate mare de leucocite, în urma investigării poate da rezultate fals-pozitive, de aceea se recomandă ca astfel de probă în prealabil să fie încălzită, pentru a inactiva enzimele celulelor purulente. Urina investigată la prezenţa sângelui ocult trebuie să fie proaspăt colectată. La cercetarea întirziată a urinei are loc transformarea hemoglobinei în methemoglobină, care nu are acţiune pseudoperoxidazică, şi se obţin rezultate negative.

5. Influenţa conservanţilor asupra rezultatelor cercetării urinei

la utilizarea conservanţilor e necesar de a ţine cont de proprietăţile lor specifice:

Cloroformul se depune pe fundul eprubetei ceea ce împiedică cercetarea sedimentului; de asemenea el reduce cuprul şi, în felul acesta, falsifică rezultatele determinării glucozei.

Timolul (0,1g la 100 ml urină) nu posedă astfel de calităţi negative şi, totodată, permite de a păstra urina câteva zile. În cantităţi mai mari timolul împiedică efectuarea reacţiei inelare de identificare a proteinei şi reacţiei de identificare a indicanului.

Adăugarea **acidului ortoboric** influenţează asupra determinării glucozei.

Formaldehida - este un conservant convenabil (2-3 picături) pentru sedimentul urinar, însă în cantităţi mari poate precipita, împiedicând determinarea proteinelor, glucozei şi indicanului.

Fenolul împiedică la determinarea acetonei în urină.

Toluen - cel mai convenabil conservant al urinei - se adaugă în aşa cantitate până când se formează un strat subţire de toluen, care acoperă suprafaţa urinei.

7.4 Indicaţii metodice pentru aprecierea veridicităţii analitice a metodelor diagnostice de laborator

(pentru centrele teritoriale organizator-metodice şi de control al calităţii investigaţiilor de laborator)

Calitatea investigaţiilor de laborator depinde de un şir de factori, printre care o importanţă majoră o are calitatea metodei utilizate.

Pentru aprecierea obiectivă a calităţii metodei se recomandă de a aprecia certitudinea (siguranţa) ei analitică.

Spre deosebire de sistemul controlului calităţii investigaţiilor de laborator, care asigură zilnic date despre calitatea investigaţiilor efectuate, aprecierea certitudinii analitice a metodei este un proces de lungă durată, pe parcursul căruia are loc acumularea succesivă a informaţiei, referitoare la calităţile analitice a metodei.

Sarcina aprecierii siguranţei metodei constă în depistarea erorilor ce depind de metodă; de aceea e necesar de a verifica şi a aprecia metoda în câteva laboratoare (de referinţă) cu respectarea tuturor instrucţiunilor în aplicarea ei.

Deoarece în diagnosticul de laborator se aplică un număr divers de metode analitice cantitative, modurile de apreciere a certitudinii metodelor nu poate fi acelaşi. Evaluării certitudinii analitice trebuie supuse metodele care se recomandă pentru aprobare oficială, metode noi şi metode modificate esenţial.

CRITERIILE DE APRECIERE A CERTITUDINII ANALITICE A METODEI

Criteriile de baza pentru aprecierea certitudinii metodei sunt: **reproductibilitaea, corectitudinea, specificitatea, sensibilitatea.**

I. REPRODUCTIBILITATEA

Reproductibilitatea rezultatelor - corespunderea rezultatelor determinărilor repetate efectuate pe unul şi acelaşi material.

Reproductibilitatea nu are valoare numerică, ea este determinată de nivelul de dispersie a rezultatelor.

Reproductibilitatea metodei analitice este determinată de reproductibilitatea rezultatelor obţinute în urma aplicării metode date, ţinând seama de reproductibilitatea în serie, timp şi reproductibilitatea inter-laborator.

Noţiunea inversă reproductibilităţii - dispersia rezultatelor sau variaţia analitică - depinde de prezenţa erorilor întâmplătoare şi poate fi caracterizată cantitativ. Reproductibilitatea se calculează după 2 rezultate paralele la cercetarea diverselor probe sau după rezultatele determinărilor repetate, efectuate pe unul şi acelaşi material de control. Materialul de control trebuie să fie stabil în timpul controlului.

Ca indici statistici ai dispersiei rezultatelor servesc abaterea medie pătratică S şi indicele relativ al dispersiei rezultatelor - coeficientul de variaţie V. Variaţia analitică a metodei se compară cu ajutorul testului T (formulele 1-7).

Formulele pentru calcularea certitudinii analitice al metodei

$$\overline{X}=\frac{\sum_{i=1}^{n} X}{n}; \qquad (1) \qquad\qquad S_1=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(X-\overline{X})^2}{n-1}}; \qquad (2)$$

$$S_2=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} d^2}{n}}; \qquad (3) \qquad\qquad V=\frac{S}{\overline{X}}\times 100; \qquad (4)$$

$$T=\frac{X_{i\max}-\overline{X}}{S}; \qquad (5) \qquad\qquad T=\frac{\overline{X}-X_{i\min}}{S}; \qquad (6)$$

$$F=\frac{S_1^2}{S_2^2}; \qquad (7)$$

X_i - valoarea unei determinări aparte;
$\overline{X}$ - valoarea medie aritmetică;
$X_{i\,max}$ - rezultatul maximal obţinut (din rândul cercetat);
$X_{i\,min}$ - rezultatul minimal obţinut;
$\sum$ - simbolul sumei;
d - diferenţa între două determinări paralele;
n - numărul de determinări;
S - devierea medie;
V - coeficientul de variaţie;
T - testul de depistare a erorilor grave;
F - testul de apreciere a variaţiei metodelor.

Reproductibilitatea metodei depinde de concentraţia componentului cercetat; de aceea S se determină la diferite concentraţii (normală şi patologică); aceasta permite de a caracteriza complet reproductibilitatea metodei pe întregul diapazon de concentraţii cercetate.

Coeficientul de variaţie se află în dependenţă indirectă de reproductibilitatea rezultatelor obţinute printr-o metodă sau alta; cu cât coeficientul e mai mic cu atât e mai mare reproductibilitatea.

Această metodă de evaluare a reproductibilităţii permite de a aprecia şi compara obiectiv reproductibilitatea diferitor metode. De obicei reproductibilitatea metodei depinde de erorile întâmplătoare condiţionate de numărul de procedee, ce include metoda: precipitare, centrifugare, pipetare, stabilitatea complexului colorat, etc. Pentru aprecierea corectă a reproductibilităţii metodei e necesar de a efectua nu mai puţin de 20 de determinări paralele. Odată cu mărirea numărului de determinări (n) creste şi exactitatea calculării abaterii mediei pătratice; totodată erorile condiţionate de procesul de muncă trebuie reduse la minimum. E de dorit ca condiţiile procesului de lucru să rămână aceleaşi în tot timpul investigării.

II. CORECTITUDINEA

Corectitudinea rezultatelor - corespunderea valorii medii a rezultatelor determinărilor repetate ale unuia şi acelaşi material cu valoarea cuvenită. Corectitudinea nu are valoare numerică, ea este determinată de incorectitudine.

Corectitudinea metodei este determinată de corectitudinea rezultatelor obţinute prin metoda dată. Corectitudinea depinde de erorile sistematice ale metodei. Eroarea sistematică a metodei poate fi condiţionată de o serie de cauze:

1) de nespecificitatea metodei - în acest caz ea se determină ca o eroare sistematică constantă;
2) de modul inexact de construire a curbei etalon;
3) de utilizarea materialului de calibrare de o puritate insuficientă;
4) de executarea incorectă a probei de control - în aceste cazuri ea se determină ca o eroare proporţională, sistematică a metodei.

Eroarea constantă şi proporţională constituie eroarea sistematică totală a metodei. Criteriul statistic al corectitudinii este media aritmetică şi gradul ei de deviere de la valoarea veridică (nominală) .

Căile de stabilire a corectitudinii sunt:

• **metoda adaosului** - în lichidul biologic se introduce o cantitate cântărită exact de substanţă supusă analizei şi apoi ea este dozată cu ajutorul metodei care se află în investigaţie.

• **metoda probelor amestecate** - lichidul biologic cu concentraţie crescută şi scăzută a substanţei cercetate se amestecă în raporturi diferite. Această metodă poate fi folosită la determinarea activităţii enzimelor, unde metoda prin adaos nu poate fi aplicată.

Atât metoda prin adaos cât şi metoda probelor amestecate permit de a determina numai eroarea sistematică proporţională a metodei.

De exemplu, cantitatea de creatinină adăugată, dozată prin reacţia Iaffe, poate furniza un procent excelent de depistare a acestei substanţe. Însă metodele bazate pe reacţia Iaffe dau rezultate incorecte din cauza specificităţii lor joase. Procentul de depistare al substanţei egal cu 90 - 110% se consideră satisfăcător pentru metodele clinice de laborator.

Cercetarea materialului de control cu concentraţia cunoscută a componenţilor – prezintă cel mai simplu procedeu de evaluare a corectitudinii. Însă el poate fi utilizat numai pentru estimarea rapidă aproximativă a corectitudinii metodei. Ca condiţie obligatorie, care limitează posibilităţile acestui procedeu, este utilizarea metodei de cercetare indicată în instrucţiunea materialului de control. Factorii care pot schimba intr-o măsură însemnată valoarea veridică a componentului pot fi: procedeul de preparare a materialului de control, păstrarea lui, tipul de ser utilizat. Unor schimbări majore pot fi supuse, îndeosebi, enzimele.

Comparaţia metodelor. Cel mai informativ este procesul de comparaţie a metodelor. Acest mod permite de a determina eroarea sistematică generală a metodei. Sensul comparaţiei metodelor constă în comparaţia rezultatelor, obţinute prin metoda-candidat (adică metoda a cărei corectitudine se determină) şi prin metoda comparativă cunoscută, care dă rezultate corecte. În aşa caz extrem de important este corectitudinea metodei comparative. Iată de ce, Federaţia Mondială a Chimiei Clinice a introdus noţiunea de metodă de referinţă.

Metoda de referinţă este o metodă, care posedă specificitate, reproductibilitate şi corectitudine maximă a rezultatelor. Metoda de referinţă serveşte în primul rând pentru comparaţia metodelor la aprecierea certitudinii analitice a metodelor standardizate şi a altor metode.

Însă metodele de referinţă pot fi inaccesibile pentru laboratoarele clinice, iar pentru unii componenţi ele nu sunt încă elaborate. De aceea în calitate de metode de comparaţie pot fi utilizate metodele, corectitudinea cărora a fost verificată, şi care nu dau devieri esenţiale de la valorile veridice.

Pentru o apreciere justă a corectitudinii metodei propuse comparaţia metodelor se efectuează conform cerinţelor comparaţiei metodelor:

1) respectarea exactă a instrucţiunilor (scrise) de utilizare a metodei;
2) cercetările se efectuează folosind material de control unic pentru asigurarea păstrării stabilităţii condiţiilor de investigare în decursul întregii perioade de comparaţie a metodelor;
3) în metodele, care se compară, se verifică exactitatea şi dependenţa liniară a curbelor etalon;
4) pe parcursul comparării e necesar de a folosi aceiaşi reactivi şi acelaşi utilaj; analizele sunt efectuate de unul şi acelaşi laborant;

5) corectitudinea metodei este evaluată pe tot diapazonul de concentraţii, ce se supun cercetării; de aceea trebuie investigate probe cu concentraţii scăzute, normale şi ridicate de substanţă;

6) compararea metodelor se efectuează pe materiale de control şi biomaterial obţinut de la persoane sănătoase şi de la bolnavi;

7) o mare importanţă are alegerea metodei de comparaţie.

Prelucrarea statistică a rezultatelor constă în evaluarea gradului de coincidenţă a rezultatelor obţinute de metoda-candidat şi metoda de comparaţie. Spre deosebire de reproductibilitate, evaluarea corectitudinii rezultatelor este o problemă considerabil mai complicată. Pentru prelucrarea statistică a rezultatelor pot fi utilizate diverse teste statistice.

În continuare se propune metoda statistică de apreciere a rezultatelor metodelor de comparaţie, care nu necesită tehnică specială de calcul şi care permite de a aprecia corectitudinea metodei-candidat.

Evaluarea statistică a corectitudinii rezultatelor metodelor de comparaţie

Pentru aprecierea corectitudinii se determină:

- autenticitatea diferenţelor rezultatelor;
- prezenţa conexiunii statistice.

Determinarea autenticităţii diferenţelor rezultatelor

Pentru determinarea autenticităţii diferenţelor rezultatelor se utilizează testul (t) Student:

$$t = \frac{\overline{X} - Y}{\sqrt{m_x^2 + m_y^2}}; \quad (8)$$

unde:

$\overline{X}$ şi $\overline{Y}$ - media aritmetică a metodelor ce se compară;

m - eroarea mediei aritmetice.

Testul Student permite de a obţine cele mai autentice rezultate în cazul unei dispersii normale a rezultatelor.

De aceea, când dispersia nu este normală, devine imposibil de a determina tipul de dispersie condiţionată de un număr mic de observaţii, se recomandă de a utiliza criterii neparametrice - criteriul simbolurilor, testul Vilcocson.

Avantajul criteriilor neparametrice constă în independenţa lor de tipul de dispersie a rezultatelor şi simplitatea calculului.

Criteriul simbolurilor este efectiv în cazul unui număr mare de determinări, însă el nu ţine cont de gradul diferenţelor în fiecare pereche ci numai de direcţia lor şi se bazează pe calculul diferenţelor între rezultatele X şi Y cu semnul (+) sau (-).

Dacă numărul de observaţii nu e mare şi criteriul simbolurilor nu relevă diferenţe, atunci e raţional de a folosi criteriul T - criteriul pereche Vilcocson. Criteriul T este un criteriul mai sensibil şi se bazează pe următorul procedeu: diferenţelor dintre 2 şiruri rezultate (X şi Y) li se dă numere de categorie în ordinea creşterii valorilor absolute ale diferenţelor (fără a ţine seama de semnul lor). Valorilor coincidente li se da numere de categorie egale cu media valorilor de ordine. De exemplu diferenţele egale clasate pe locul 3 şi 4 primesc numărul de categorie 3,5.

În continuare se calculează valoarea criteriului T egală cu suma numerelor de categorie ale diferenţelor cu valoare negativă (adică diferenţelor opuse celor observate în majoritate) (tabel 7.11).

Tabelul 7.11

Exemplu de calcul al criteriului T- Vilcocson

Nr, d/o	Rezultatele şirului X	Rezultatele şirului Y	Diferenţa	Numărul de categorie al diferenţei
1	107	88	19	6,5
2	93	74	19	6,5
3	121	92	29	8
4	85	72	13	4
5	89	90	-1	1
6	110	108	2	2
7	81	67	14	5
8	102	110	-8	3

T = 1 + 3 = 4

Concluzii se fac conform nivelului de semnificaţie obţinut al investigaţiilor.

În diagnosticul de laborator e suficientă valoarea P = 0,05. Datele obţinute se compară cu datele din tabel. Daca P < 0,05, diferenţele între metoda-candidat şi metoda de comparaţie sunt autentice, adică metoda-candidat e incorectă. Daca P > 0,05 diferenţele la nivelul obţinut de semnificaţie nu sunt veridice, deci metoda-candidat poate fi corectă. Următoarea etapă de prelucrare a rezultatelor este aprecierea conexiunii statistice

APRECIEREA CONEXIUNII STATISTICE

Aprecierea conexiunii statistice se poate efectua după metoda corelaţiei şi metoda regresiei.

Metoda corelaţiei. Corelaţia indică gradul conexiunii a 2 şiruri de numere, adică se studiază dependenţa între rezultate X şi Y a 2 metode. Pentru determinarea corelaţiei se calculează coeficientul de corelaţie şi coeficientul corelaţiei de rang, la calculul căruia rezultatele sunt apreciate după numerele de ordine - în trepte de la rezultate mici spre rezultate mari. Numărul de ordine al fiecărui rezultat prezintă gradul lui.

Formulele de calcul ale coeficientului de corelaţie este 9 şi 10.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left(X - \overline{X}\right)\times\left(Y - Y\right)}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}\left(X - \overline{X}\right)^{2} \times \sum_{i=1}^{n}\left(Y - \overline{Y}\right)^{2}}}, \qquad (9)$$

unde:

X şi Y - valoarea fiecărui rezultat;

$\overline{X}$ şi $\overline{Y}$ - media aritmetică a fiecărui şir.

$\left(X - \overline{X}\right)$ şi $\left(Y - \overline{Y}\right)$ - devierea medie a fiecărui rezultat în comparare cu media aritmetică.

$$p = 1 - \frac{6\times\sum_{i=1}^{n}\left(r_x - r_y\right)^2}{n\times\left(n^2 - 1\right)}, \qquad (10)$$

unde:

r_x şi r_y - este gradul şirului x şi y;

n - numărul de perechi ce se compară;

$\sum_{i=1}^{n}$ - simbolul sumării.

Coeficientul corelaţiei poate oscila de la 0 până la +1 în corelaţia pozitivă şi de la 0 până la - 1 în

corelaţie negativă.

Dacă există o coincidenţă bună a rezultatelor metodelor, ce se compară r va fi aproape de 1,0 (0,9-0,99). Cu cât coeficientul de corelaţie e mai mic, cu atât e mai mic şi gradul de coincidenţă a rezultatelor metodelor comparative. În absenţa conexiunii între rezultate $r = 0$. În corelaţia negativă, la modificarea rezultatelor grupului "X" rezultatele grupului Y se vor modifica în sens opus: = -1.

Metoda regresiei. Dacă corelaţia indică gradul de legătură, atunci regresia permite de a determina modificarea cantitativă a unui rezultat pe măsura modificării altui rezultat. La construirea dreptei empirice de regresie pe diagramă se înscriu rezultatele perechi prin puncte: pe abcisă - a metodei de comparare, pe ordinată - a metodei-candidat. Diagrama dă prima impresie despre tipul de conexiune între metode. La o regresie liniară, punctele sunt grupate în jurul dreptei de regresie. Dacă regresia nu este liniară, metoda-candidat cere o finisare şi deci nu poate fi folosită în diagnosticul de laborator.

Regresia liniară se calculează după formulele 11-13:

$$Y = a + bX, \qquad (11)$$

unde:

X - rezultatele metodei de comparaţie;

Y - rezultatele metodei – candidat;

a - valoarea y când x = 0;

b – coeficientul de proporţionalitate sau a regresiei.

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{n}(X \times Y) - \bar{X} \times \sum_{i=1}^{n}(Y)}{\sum_{i=1}^{n}(X^2) - \bar{X} \times \sum_{i=1}^{n}(X)}; \quad (12) \qquad S_{xy} = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^{n}(Y^2) - \left[a \times \sum_{i=1}^{n}(Y) + b \times \sum_{i=1}^{n}(xy)\right]}{n}} \quad (13)$$

Dacă "a" se evidenţiază statistic de "0" (a = 0), atunci metoda-candidat posedă eroare sistematică faţă de metoda comparativă. Aceasta eroare poate fi acceptabilă sau neacceptabilă.

În tabelul 7.12 este prezentată prelucrarea statistică a rezultatelor determinării proteinei totale prin metoda refractometrică şi prin metoda biuret.

Tabelul 7.12

Estimarea statistică a rezultatelor determinării proteinei în serul sanguin prin metoda biuret (unificată) şi prin metoda refractometrică

Metodele	N	$\bar{X}, S$ (g/l)	Testul t	Criteriul simbolurilor	Coeficientul de corelaţie al categoriilor	Coeficientul liniar de corelaţie	Regresia
Biuret (X)	50	$\bar{X} = 76$ $S = 7,2$	t=6,26	+48 - 2	0,75	0,75	X=16+0,96 Y
Refracto-Metrică (Y)	50	$\bar{Y} = 86$ $S = 8,7$	p<0,05	p<0,05	-	-	$S_{XY} = 8,9$

Diferenţele rezultatelor sunt autentice, conexiunea e slabă.

În tabelul 7.13 sunt prezentate rezultatele determinării concentraţiei ureei în ser prin metoda cu diacetilmonooximă şi metoda enzimatică. În acest caz metoda enzimatică prezintă metoda comparativă, întrucât ea este mai specifică.

Tabelul 7.13

Estimarea statistică a rezultatelor paralele de determinare a ureei prin metoda enzimatică şi cu diacetilmonooximă

Metodele	n	$\overline{X}, S$ (mmol/l)	Testul t	Criteriul simbolurilor	Testul Vilconson	Coeficientul de corelaţie
1	2	3	4	5	6	7
Valori normale						
Enzimatică cu urează (X)	14	$\overline{X}$ = 5,26 S = 2,3	t=0,26	+8 -6	T=45	0,94
Cu diacetil-monooximă (Y)	14	$\overline{Y}$ = 5,0 S = 2,0	p>0,05	p>0,05	p>0,05	-
Valori patologice						
Enzimatică cu urează (X)	14	$\overline{X}$ = 18,6 S = 7,76	t=0,191	+8 -6	T=46	0,98
Cu diacetil-monooximă (Y)	14	$\overline{Y}$ = 19,2 S = 8,0	p>0,05	p>0,05	p>0,05	-

III. SPECIFICITATEA

Specificitatea analitică a metodei este proprietatea metodei de a evalua numai acel component sau acele componente, pentru determinarea cărora ea este destinată. Specificitate scăzută are ca rezultat obţinerea rezultatelor incorecte şi ea trebuie să fie indicată în descrierea metodei. Aprecierea specificităţii nu este încununată de succes, deoarece orice substanţă poate influenţa asupra rezultatelor. De exemplu, la metode cu specificitatea scăzută se referă metoda reduc-tometrică de determinare a grupei de substanţe reducătoare în sânge sau reacţia Iaffe pentru dozarea creatininei şi a cromogenilor sanguini asemănători cu creatinina.

Specificitate înaltă posedă metodele enzimatice de determinare a glucozei şi ureei.

Multe metode necesită efectuarea probei de control pentru corecţia nespecificităţii. Aprecierea specificităţii analitice necesită utilizarea impurităţilor, care, bazate pe structura chimică, sunt reprezentanţii acelor grupe de substanţe care din punct de vedere fiziologic au importanţă practică.

Interferenţa e condiţionată de influenţa substanţelor asupra mersului reacţiei. Modul de influenţă (creştere, scădere) şi gradul de influenţă pot fi diverse. Din acest punct de vedere importantă este interferenţa medicamentelor. Remediile medicamentoase în dependenţă de tip, doză, modul de administrare pot influenţa asupra rezultatelor investigaţiilor de laborator prin diverse căi: se disting interferenţa farmacologică în organism şi interferenţa tehnică pe parcursul efectuării analizei. Deoarece interferenţa şi specificitatea scăzută micşorează corectitudinea metodei, sunt preferate metodele cu o specificitate mai înaltă şi care nu se supun interferenţei.

IV. SENSIBILITATEA ANALITICĂ. LIMITA SENSIBILITĂŢII

Sensibilitatea analitică a metodei e determinată de capacitatea ei de a releva cele mai mici diferenţe între 2 concentraţii a substanţei cercetate. În procesul de calibrare se determină limitele curbei etalon, care prezintă o parte din caracteristica analitică a metodei. În celelalte condiţii identice panta mică a curbei etalon corespunde unei mai mari sensibilităţi a metodei, ceea ce permite relevarea cantităţilor mici de substanţa analizată. În zona minimă şi maximă a curbei etalon capacitatea de relevare a substanţelor se înrăutăţeşte.

Limita inferioară a sensibilităţii metodei este concentraţia substanţei cercetate ce corespunde celui mai mic rezultat, care diferă autentic de indicii probei de control. Limita sensibilităţii poate fi apreciată cantitativ. Ea caracterizează metoda din punct de vedere analitic şi permite de a compara metodele după

această calitate. Limita de jos a sensibilității permite de a evita erorile, condiționate de măsurarea valorilor mai mici decît limita de jos a sensibilității.

Determinarea limitei de jos a sensibilității metodelor fotometrice se efectuează astfel: se fac investigații repetate (n = 20) a probei de control și a probelor cu concentrație scăzută a substanței analizate și se stabilesc, reieșind din nivelul dat al semnificației statistice, diferențele autentice între proba de control și proba de analizat cu conținut scăzut de substanță. Această diferență cantitativ corespunde limitei de jos a sensibilității metodei. Experimental s-a stabilit că limita de jos a sensibilității metodelor fotometrice este egală cu valoarea mediei probei de control, plus trei abateri ai mediei pătratice.

BAZELE TEORETICE ALE DETERMINĂRII ERORILOR PERMISE A REZULTATELOR INVESTIGAȚIILOR DE LABORATOR

Determinarea limitelor permise ale erorilor metodei urmărește scopul de a stabili acceptarea calităților analitice ale metodei în scopuri clinice.

Bazele teoretice de determinare a variației analitice admisibile se bazează pe următoarele:

1. Determinarea variației analitice a metodei (devierii mediei pătratice și coeficientului de variație - prin aprecierea siguranței analitice a metodei).
2. Calculul teoretic al variației analitice ca parte stabilă a variației biologice. Sensul unei astfel de abateri constă în determinarea gradului de influență a variației analitice asupra variației biologice, și în felul acesta - determinarea gradului de influență a variației analitice asupra extinderii limitelor valorilor normale și de referință.

Raportul dintre diferite tipuri de variație se determină după următoarea ecuație:

$$S_{tot}^2 = S_{anal}^2 + S_{biol}^2 \quad (14)$$

unde:

S_{tot} - variația totală;

S_{anal} - variația analitică;

S_{biol} - variația biologică.

Variația biologică are două surse: variația intraindividuală și variația interindividuală*.

$$S^2_{biol} = S^2_{intraind} + S^2_{interind} \quad (15)$$

S-a calculat că dacă raportul S_{anal} / S_{biol} e mai mic de 0,4, atunci majorarea variației biologice pe contul variației analitice e neînsemnată (matematic e calculat).

Exista și alte moduri de determinare a raportului variația analitică / variația biologică. După datele unor autori coeficientul de variație a metodei nu trebuie să depășească 1/8 din zona limitelor normale (în %) față de valoarea medie normală. Cu această ocazie valorile normale sunt examinate ca o totalitate a variației analitice și biologice. În toate cazurile de calculare a limitelor permise ale erorii pentru fiecare component și metodă, variația analitică obținută experimental se compară cu valorile calculate teoretic.

3. Limitele permise ale erorilor din punct de vedere medical.

Modul de estimare a limitelor permise ale erorilor trebuie să se bazeze pe cercetări științifice riguroase, efectuate de medici clinicieni și medici de laborator. Este cunoscut faptul, că în trecut, problema variațiilor fiziologice era adesea ignorată când se interpreta o analiză de laborator. Astăzi sunt studiate cu atenție toate cauzele de fluctuație a rezultatelor și se cercetează influența diverșilor factori, legați fie de metodă, de condițiile de prelevare și păstrare a probelor sau de diferențele intra- și interindividuale.

În ultima instanță orice indice de laborator se determină în scopuri clinice, în scop de diagnostic, diagnostic diferențial, monitorizare a evoluției bolii, complicațiilor, ca indicator de pronostic, pentru aprecierea eficacității terapiei aplicate. Rezultatele examenului de laborator, foarte frecvent prezintă unicul sau principalul criteriu obiectiv în stabilirea diagnosticului.

De aceea din punct de vedere medical limitele permise ale erorilor în diverse situații clinice sunt

diferite, însă ele indispensabil completează cunoştinţele despre erorile permise în dependenţă de scopul investigaţiei de laborator. În dependenţă de scopul pus, limitele permise ale erorilor medicale pot include diferite tipuri de variaţie. De exemplu, la analiza zilnică a unui test limitele permise ale erorilor includ variaţia zilnică intraindividuală şi cea analitică.

La dispensarizarea populaţiei o importanţă mare în diferenţierea valorilor normale de cele patologice au oscilaţiile inter-individuale. Determinarea limitelor permise ale erorilor medicale, permite în anumite cazuri, de a nu obţine exactitate mare, care se cere în anumite circumstanţe clinice, care la rândul său sunt legate de creşterea cheltuielilor pentru efectuarea analizelor.

În tabelul 4 sunt prezentate limitele permise ale variaţiei analitice (V%) pentru un şir de substanţe, adoptate de grupul de experţi în diagnosticul de laborator din Federaţia Rusă.

La general, caracteristica clinică a calităţilor analitice ale metodei date şi determinarea limitelor permise ale erorilor acesteia sunt îndreptate spre creşterea importanţei diagnosticului de laborator şi eficacităţii economice a testelor de laborator.

* - Pentru interpretarea corectă a analizelor de laborator este necesar de a se ţine seama de factorii care por influenţa rezultatele examenelor de laborator. Din acest punct de vedere se disting trei surse de variaţii:

- variaţii analitice;
- variaţii biologice;
- variaţii iatrogenice

Variabila analitică preinstrumentală este dependentă de toate sursele de variaţii cauzate de recoltarea probei până la determinare, cum sunt:

- pregătirea bolnavului;
- recoltarea probelor;
- păstrarea şi transportarea materialului biologic.

Variabila analitică instrumentală este eroarea analitică datorată metodelor de dozare.

Variaţiile analitice trebuie menţinute constante şi la un nivel scăzut pentru a nu mări incertitudinea în momentul evaluării unui rezultat individual în intervalul de referinţă.

Variabilitatea biologică se clasifică în variaţii intra- şi interindividuale, variaţii genetice şi dobândite, variaţii datorate mediului, factorilor exogeni şi endogeni.

Variabila biologică intraindividuală. Variaţiile intraindividuale pot fi abordate prin măsurarea succesivă, în cursul timpului, a unui parametru la acelaşi individ. Această variabilă este greu de urmărit deoarece este dificil să constrângi numeroşi subiecţi să participe la un asemenea program. Aceste studii se efectuează de obicei pe populaţii restrânse de voluntari, care trăiesc în instituţii sociale, medicale etc.

Variabila biologică interindividuală. *Această variabilă reprezintă ansamblul variaţiilor unei populaţii. Dacă ţinem cont de faptul că o populaţie este foarte heterogenă şi că noţiunea de omogenitate nu poate fi definită la modul absolut, ea fiind relativă, este evident că acest număr de factori pe care va fi necesar să-i controlăm este indefinit şi este practic imposibil să fie studiaţi în totalitate.*

Cei mai importanţi factori care pot influenţa rezultatele analizelor sunt:

Vârsta. Variaţiile în funcţie de vârstă sunt bine cunoscute. În primul rând trebuie să menţionăm concentraţiile hormonilor care suferă variaţii datorită creşterii, de la nou născut la copil şi la adult.

Se cunoaşte, de asemenea, variaţia colesterolului şi a ureei. În ultimul timp s-a constatat că şi activitatea ALAT, PCE, LDH şi mai ales a fosfatazei alcaline variază în funcţie de vârstă fiind mai înaltă la nou născuţi şi copii.

Sexul. Numeroşi constituenţi plasmatici au concentraţii diferite în funcţie de sex. Dintre aceştia enumerăm doar câţiva: hemoglobina, hematocritul, fierul, cuprul, colesterolul, trigliceridele, etc.

La femei amilaza, transferina au concentraţii mai crescute, pe când la bărbat activitatea fosfatazelor alcaline, creatinfosfokinazei (CPK), γ-glutamiltranspeptidazei (γ-GPT), concentraţia ureei, creatininei şi acidului uric sunt mai crescute. La femeile de vârstă fertilă oscilaţiile activităţii ALAT poartă un caracter ciclic, legat de funcţia hormonală şi ciclurile fiziologice. Estrogenii măresc activitatea ALAT, iar androgenii, dimpotrivă o micşorează.

Rasa. Acest capitol a suscitat mult interes, dar este din ce în ce mai greu de cercetat datorită amestecului

populațiilor. S-a constatat că la rasa neagră concentrația plasmatică în trigliceride, potasiu și sodiu este mai crescută decât la albi, iar concentrația în acid uric este mult mai crescută la unele populații din Oceania.

Stări fiziologice deosebite: sarcină, menopauză, menstruație.

Alimentația. Alimentația poate interfera dozarea colorimetrică a anumitor constituenți datorită conținutului lor în diverse principii, cum sunt: pigmenții, carotenii, antocianii. Există alimente care au efect asupra unor constituenți biologici prin conținutul lor crescut în anumite substanțe, cum sunt de exemplu: spanacul, măcrișul care conțin cantități crescute de acid oxalic și care interferă în dozarea calciului. Cafeaua și cofeina cresc glucoza plasmatică și acizii grași neesterificați și scade timpul protrombinic Quick. În postul alimentar prelungit, în afara creșterii corpilor cetonici plasmatici, crește secreția de aldosteron, a trigliceridelor, glicerolului, ureei, a acidului uric. Ingestia de alimente provoacă variații dificil de controlat. Astfel la două ore după o masă completă (700 cal), la subiecții sănătoși, se observă o creștere cu 15% a concentrației plasmatice a glucozei și a fosfaților, cu 20% a ASAT-ului și 6% a ALAT-ului.

Efortul fizic. Crește concentrația albuminelor și a altor enzime plasmatice. Dacă efortul este intens pot crește enzimele de origine celulară: LDH, aldolaza, CPK, ASAT, ALAT și chiar ornitin-carbamiltransferaza., într-un efort de intensitate mică cresc ușor fosfatul și proteinele plasmafice.

Stresul. Este un factor important de care trebuie să se țină seama mai ales în momenlul recoltării probelor, deoarece acesta duce la creșterea concentrației plasmatice a trigliceridelor, colesterolului, acidului uric, glucozei, somatotropinei, noradrenalinei, hormonilor tiroidieni, a acizilor neesterificați.

Ortostatismul. Proteinele serice, albuminele și substanțele legate de proteine (colesterolul, calciul) cresc după 15 minute de stat în picioare, datorită ușoarei hipovolemii indusă de ortostatism. Aldosteronul plasmatic crește de 5-10 ori în ortostatism față de poziția culcat, la fel și hematocritul care crește cu 10%. În urină noradrenalina crește de 3 ori.

Ritmurile circadiene. S-a constatat faptul că activitatea serică a fosfatazei alcaline scade de la 25 până la 50% dimineața, activitatea LDH dimpotrivă atinge valorile maximale la ora 6^{00} dimineața, pe parcursul zilei se produce o scădere a enzimei date. Concentrația plasmatică a aldosteronului crește de la 6 dimineața până la 3 după amiază, secreția sa fiind mai scăzută noaptea. Probabil acest efect este datorat poziției ortostatice. Excreția noradrenalinei este mai crescută ziua decât noaptea. Concentrația plasmatică a fierului are un ritm circadian cu maxim după amiază și minim la 4 dimineața.

Mediul ambiant. Pesticidele, insecticidele, oxidul de carbon, vaporii de benzină, solvenții organici, lacurile pentru păr, etc. pot da unele modificări ale examenelor de laborator cel mai adesea din cauza modificărilor toxice (citopenie, trombocitopenie, anemie hemolitică, nefro- și hepatotoxicitate). Adesea cresc transaminazele, pseudocolinesteraza, bilirubina, iar timpul protrombinic Quick și elementele figurate scad.

Frigul. La temperaturi scăzute cresc în plasmă catecholaminele, hormonii tiroidieni, hormonul de creștere și leucocitele. Acizii aminați ca tirozina și triptofanul plasmatic scad, pe când activitatea creatinkinazei crește.

Febra. *La persoanele cu febră mare s-a observat o scădere a glucozei plasmatice și o creștere a ureei, uraților urinari și metabolismului bazal.*

Masa corporală. S-a constatat faptul că hemoglobina, acidul uric și creatinina plasmatică, ALAT, pseudocolinesteraza și γ-GPT cresc proporțional cu masa corporală.

Variațiile iatrogenice. Acestea sunt legate de influența diverselor proceduri diagnostice și terapeutice asupra analizelor de laborator.

Astfel, se cere o precizare riguroasă a limitelor în care se încadrează populația sănătoasă și stabilirea de intervale de referință. Medicul trebuie să fie absolut convins în corectitudinea datelor de laborator și să se bazeze pe rezultatele lor.

O importanță deosebită trebuie acordată controlului de calitate al investigațiilor de laborator. În tabelul 7.15 sunt prezentate lista celor mai importante investigații de laborator, rezultatele cărora trebuie supuse controlului calității.

Astăzi nu se mai poate concepe stabilirea unui diagnostic științific pozitiv și diferențial sau urmărirea unui tratament corect fără investigațiile de laborator necesare. În măsura în care aceste analize se execută și se interpretează judicios, ele pot fi utile în stabilirea stării fiziologice sau patologice a unui organism.

Tabelul 7.14

Limitele permise ale variației analitice (dispersia) a unor componenți cercetați

Nr.	Componentul cercetat	V %	Nr.	Componentul cercetat	V %
	Biochimia clinică				
1	Adrenalina	7	21	Leucinaminopeptidaza	10
2	Alaninaminotransferaza	7	22	Lipidele totale	5
3	Albumina	3	23	Magneziu	2
4	Alfa – Amilaza	10	24	Cupru	5
5	Amoniac	5	25	Acidul uric	7
6	Aspartataminotransferaza	7	26	Ureea	7
7	Proteina totală	3	27	Sodiu	2
8	Fracțiile proteice	8	28	Noradrenalina	7
9	Bilirubina	10	29	Triglicerigele	7
10	Glucoza	5	30	Fosforul	5
11	Glucoza-6-fosfatdehidrogenaza	8	31	Fosfatăza alcalina	7
12	ă-Glutamiltranspeptidaza	10	32	Clorul	3
13	Ferul	5	33	Pseudocolinesteraza	7
14	Imunoglobulinele	7	34	Colesterolul	7
15	Potasiu	2			
16	Calciu	2		**Hematologia**	
17	Cortizol	7	1	Hemoglobina	2
18	Creatinina	5	2	Hematocritul	3
19	Creatinfosfokinaza	7	3	Leucocite	10
20	Lactatdehidrogenaza	7	4	Eritrocite	10

Tabelul 7.15

Lista investigațiilor de laborator, rezultatele cărora sunt supuse controlului calității

I. Investigații biochimice (ser sanguin)

Nr. (d/o)	Componentul	Materialele de control (CT 42 – 14)*			
		Serocont-B	Serocont-p-ecvin (norma)	Patoserocont (patologie)	Serocont-p (uman)
	I.Cercetări biochimice (serul sanguin)				
1	Proteina totală	+	+	+	-
2	Fractiile proteice	-	-	-	+
3	Creatinina	+	+	+	-
4	Uree	+	+	+	+
5	Acidul uric	+	+	+	+
6	Proba cu timol	+	-	-	-
7	Colesterol	+	-	-	+
8	Alfa-colesterol	+	-	-	+
9	Beta-lipoproteide	-	-	-	+

10	Lipidele totale	-	-	-	+
11	Trigliceride	-	-	-	+
12	Fosfolipide totale	-	-	-	+
13	Glucoza	+	+	+	+
14	Seromucoid	+	-	-	-
15	Acizii sialici	+	-	-	-
16	Bilirubina totală	-	-	-	+
17	Sodiu	+	+	+	-
18	Potasiu	+	+	+	-
19	Calciu	+	+	+	-
20	Magneziu	+	+	+	-
21	Cloruri	+	+	+	+
22	Fier	+	+	+	+
23	Fosfor anorganic	+	+	+	+
24	Alaninaminotransferaza	+	-	-	+
25	Aspartataminotransferaza	+	-	-	+
26	Fosfataza alcalina	+	-	-	+
27	Lactatdehidrogenaza	+	-	-	+
28	Alfa-amilaza	+	-	-	+

* - Materiale de control produse în Rusia.

II. Analiza compoziției chimice a urinei			
Nr. (d/o)	Componentul	Material de control cu concentrație normală	Material de control cu concentrație patologică
29	Glucoza	+	+
30	Proteina	+	+
31	Acetona	+	+
32	Pigmenți biliari	+	+
33	Urobilinoizii	+	+
34	PH	+	+
35	Creatinina	+	+
36	17 – Cetosteroizi	+	+
37	17 – Oxicorticosteroizi	+	+
38	Adrenalina	+	+
39	Noradrenalina	+	+

III. Cercetările sistemului de hemostază				
Nr. (d/o)	Componentul	Tromboplastină standard cu activitate determinată	Plasma umană de control cu conținut cunoscut de tromboplastină	Plasma umană de control cu timp stabilit de tromboplastină parțial activat
40	Timpul protrombinic	+	+	+
41	Fibrinogen	+	+	+
42	Timpul de tromboplastină parțial activat	+	+	+
43	Factorii de coagulare	+	+	+

CAPITOLUL 8

Normele de timp calculate şi folosirea lor la efectuarea cercetărilor de laborator

Normele de timp au fost elaborate de către colaboratorii Catedrei Diagnostic de Laborator Clinic, USMF "Nicolae Testemiţanu" (Vasile Niguleanu, d.h.ş.m., prof.univ., Valentin Gudumac, d.h.ş.m., prof.univ., Lucia Andrieş, d.h.ş.m., prof.univ.) prin mijloace ştiinţifice, pe baza cronometrajului elementelor procesului analitic, efectuat în mai multe laboratoare clinice cu participarea specialiştilor de înaltă calificare (8).

1. Normele de timp calculate pentru efectuarea cercetărilor de laborator

1.1. Metodologia determinării normelor de timp calculate

Normă de timp calculată - timpul necesar pentru efectuarea unei analize de laborator, stabilit prin mijloace ştiinţifice, pe baza unor condiţii tehnice date.

Normele de timp sunt folosite în practica laboratoarelor de diagnostic clinic (LDC) la rezolvarea unor probleme importante ce ţin de organizarea şi perfecţionarea activităţii lor şi anume - la planificarea şi organizarea muncii medicilor de laborator, specialiştilor cu studii superioare şi laboranţilor, analiza volumului de muncă a personalului LDC, alcătuirea statelor, calcularea preţurilor de cost ale analizelor de laborator etc.

Normele de timp prezentate în acest compartiment au fost calculate pe baza cronometrajului efectuat în mai multe laboratoare. Mai întâi, pe baza listei operaţiunilor tehnologice alcătuite din timp, s-a înfăptuit cronometrajul diferitor elemente ale procesului analitic, apoi datele obţinute au fost supuse prelucrării statistice şi astfel s-a stabilit timpul cheltuit la efectuarea fiecărei analize de laborator (vezi compartimentul 1.3. Elaborarea normelor de timp la aplicarea în practică a metodelor noi de cercetare).

La determinarea normelor de timp calculate de asemenea s-a luat în consideraţie acea productivitate optimală a muncii personalului medical care asigură calitatea înaltă a investigaţiilor de laborator.

Normele de timp calculate includ:

a) pentru medicii de laborator şi specialiştii cu studii superioare - timpul cheltuit pentru efectuarea nemijlocită a analizelor de laborator, pregătirea reactivilor *ex-tempore*, calcularea şi înregistrarea rezultatelor în registrul de lucru.

b) pentru felcerii-laboranţi şi laboranţi - timpul cheltuit pentru efectuarea nemijlocită a cercetărilor, pregătirea reactivilor *ex-tempore*, înregistrarea biomaterialului recoltat de la pacient (în afară de sânge), calcularea rezultatelor şi înregistrarea lor în registrul de lucru, jurnalul de înregistrare şi formulare. Timpul cheltuit pentru recoltarea sângelui din deget (inclusiv înregistrarea), prelucrarea şi înregistrarea sângelui venos (colectarea serului, plasmei) este dat aparte.

Normele de timp nu conţin timpul folosit la pregătirea în prealabil a reactivilor. La calcularea timpului de centrifugare, incubaţie, colorare etc. s-a luat în consideraţie doar timpul necesar pentru introducerea eprubetelor în centrifugă sau termostat şi scoaterea lor. În aşa mod, normele de timp calculate includ numai timpul cheltuit nemijlocit la efectuarea examenului de laborator şi nu pot servi drept indice al duratei analizei de laborator.

Calcularea timpului cheltuit la efectuarea cercetărilor citologice are anumite particularităţi. Ca unitate de calcul pentru cercetările citologice se ia frotiul. Însă de la unul şi acelaşi pacient pot fi pregătite un număr diferit de frotiuri; de obicei se pregătesc nu mai mult de 5 frotiuri. Luând în consideraţie obligaţiunile funcţionale ale specialiştilor cu studii superioare şi medii preocupaţi cu cercetările citologice în normativele de timp au fost incluse următoarele etape de lucru.

- *pentru medic:* luarea de cunoştinţă cu materialul biologic, microscopierea tuturor frotiurilor pregătite de la bolnav (cercetarea generală la mărimi mici şi cu imersie), aprecierea complexă a tabloului microscopic

în confruntare cu datele clinice şi rezultatele altor metode de cercetări, consultaţii cu alţi medici, lucrul cu literatura, elaborarea concluziei diagnostice privind biomaterialul cercetat, înscrierea concluziei în formular;

- *pentru specialistul cu studii medii:* pregătirea veselei, lamelor, reactivilor *ex-tempore*, luarea de cunoştinţă cu materialul biologic şi înregistrarea lui, prepararea şi colorarea frotiurilor, aranjarea şi transmiterea acestora medicului pentru microscopiere, înregistrarea concluziei, depunerea frotiurilor în arhivă.

Deoarece ca unitate de evidenţă a lucrului medicului de laborator se ia frotiul, în normativele de timp sunt incluse valorile medii ale cheltuielilor de timp folosite la examinarea primului frotiu şi apoi pentru fiecare frotiu următor pregătit din biomaterialul unui pacient. În cheltuielile de timp pentru primul frotiu s-a luat în consideraţie în afară de microscopie, timpul cheltuit pentru toată munca începând cu lucrările de pregătire pentru cercetare şi până la finalizarea examinării materialului dat (consultaţiile cu medicii, luarea de cunoştinţă cu materialul biologic, elaborarea şi înregistrarea concluziei şi a.); cheltuielile de timp pentru fiecare frotiu ulterior cercetat include numai timpul de microscopiere. Cheltuielile de timp ale specialistului cu studii medii sunt date reieşind din timpul cheltuit pentru toate frotiurile materialului unui pacient.

La cercetarea materialului, obţinut la examenele profilactice ginecologice în normativele de timp pentru medic sunt incluse timpul folosit pentru microscopierea a două preparate (din colul uterin şi canalul cervical), iar lucrul specialistului cu studii medii include deasemenea microscopia frotiurilor.

1.2. Folosirea normelor de timp calculate la planificarea şi organizarea muncii personalului LDC

Ponderea specifică a muncii personalului medical pentru efectuarea nemijlocită a tuturor tipurilor de cercetări (activitatea de bază şi auxiliară, lucrul cu documentaţia) constituie pentru medicul de laborator sau specialistul cu studii superioare 75%, iar pentru felcerul-laborant şi laborant - 80% din timpul de muncă. Anume acest timp a fost inclus în normele de timp. Timpul cheltuit pentru alte activităţi indispensabile şi necesităţile personale în normele de timp nu a fost luat în consideraţie.

Pentru medicii de laborator şi specialiştii cu studii superioare acestea-s timpul cheltuit la însuşirea şi aplicarea în practică a metodelor noi de diagnostic, a aparaturii noi, instruirea şi controlul lucrului efectuat de personalul cu studii medii, pregătirea prealabilă a reactivilor, participarea la conferinţe şi consfătuiri, consultaţiile cu medicii clinicieni, studierea literaturii, lucrul administrativ gospodăresc, timpul personal necesar, relaxarea de scurtă durată în timpul lucrului cu microscopul şi alte aparate optice, etc.

Pentru felceri-laboranţi şi laboranţi: pregătirea locului de lucru la începutul zilei de muncă, eliberarea rezultatelor cercetărilor de laborator, primirea şi înregistrarea reactivilor şi altor materiale, întreţinerea în ordine a aparatajului, efectuarea procedurilor ce ţin de regimul antiepidemic în laborator, sterilizarea capilarelor şi veselei de laborator, pregătirea prealabilă a reactivilor, timpul personal nece-sar, relaxarea de scurtă durată în timpul lucrului cu microscopul. Timpul cheltuit de laboranţi în drum pentru colectarea materialului biologic în afara laboratorului se calculează reieşind din cheltuielile reale de la faţa locului.

Pentru şefii de laboratoare poate fi stabilit un volum diferenţiat de lucru la îndeplinirea nemijlocită a cercetărilor în dependenţă de volumul de lucru real sau volumul de lucru anual efectuat în LDC, numărul personalului medical inclus în lucrul laboratorului, etc. De exemplu: pentru şefii laboratoarelor statele căror cuprind 5-9 funcţii de medici de laborator, felceri-laboranţi şi laboranţi, volumul de lucru poate alcătui 50% din timpul de lucru. Dispunând de 10 şi mai multe funcţii de medici de laborator, felceri-laboranţi şi laboranţi, şeful laboratorului poate fi eliberat de îndeplinirea nemijlocită a cercetărilor (după hotărârea colectivului de muncă, a comitetului sindical şi administraţiei instituţiei medicale).

În normele de timp este indicat executorul lucrărilor – medicul de laborator, specialistul cu studii superioare, felcerul-laborant sau laborantul. În dependenţă de condiţiile concrete de la faţa locului se permit devieri la repartizarea lucrului indicat în normele de timp. De exemplu, durata efectuării unei investigaţii pentru diagnosticul maladiilor venerice include cheltuielile de timp ale medicului, specialistului cu studii medii şi registratorului.

Cercetările cele mai complicate şi mai importante pentru diagnosticul de laborator sunt efectuate de către medicul de laborator şi anume: cercetările citologice şi citochimice pentru depistarea bolilor oncologice; cercetările sângelui şi măduvei osoase la bolnavii cu afecţiuni hematologice; examenul

urinei la bolnavii cu maladii nefrologice; cercetările complicate biochimice, imunologice, inclusiv interpretarea clinico-diagnostică a rezultatelor analizelor. Totodată, efectuarea multor cercetări poate fi încredinţată felcerilor-laboranţi şi laboranţilor luând în consideraţie nivelul lor de calificare; acestea sunt cercetările hematologice, biochimice, examenele clinice generale, inclusiv microscopia sedimentului urinar, atunci când proprietăţile fizico-chimice nu indică patologie, formula leucocitară (leucograma repetată la pacienţii fără patologie), dozarea enzimelor, lucrul cu fotometrele programabile şi analizoarele automate, cercetările izoserologice (după specializarea şi reciclarea la metodele izoserologice şi prezentarea documentului, ce permite efectuarea cercetărilor izoserologice), etc. Responsabil pentru repartizarea obligaţiunilor funcţionale ale personalului este şeful (directorul) LDC.

Normativele de timp pentru cercetările folosite episodic sau aplicate numai în instituţiile medicale de profil, la introducerea aparaturii moderne sau a metodelor noi de diagnostic, se stabilesc pe baza datelor obiective despre cheltuielile de timp reale de la faţa locului de către şeful laboratorului, sunt coordonate cu comitetului sindical şi aprobate de conducătorul instituţiei.

Pe baza volumului de lucru realizat sau planificat de laborator cu utilizarea normativelor de muncă se rezolvă problemele folosirii, repartizării raţionale şi constituirii efectivului personalului medical. Volumul anual al activităţii subdiviziunii instituţiei date (sau a unui lucrător aparte) poate fi calculat pe baza normativelor de timp şi a numărului de cercetări efectuate timp de 1 an în laboratorul respectiv după formula (I):

$\mathbf{T=t_1n_1+t_2n_2+t_3n_3+...+t_in_i}$, unde:

T - volumul anual al activităţii subdiviziunii, exprimat în minute;

$\mathbf{n_1, n_2, n_3...n_i}$ - numărul cercetărilor de laborator;

$\mathbf{t_1, t_2, t_3...t_i}$ - timpul în minute necesar pentru efectuarea unei cercetări.

Calcularea numărului necesar de funcţii prevăzute în schema subdiviziunii (A) pentru îndeplinirea volumului anual de lucru se efectuează după formula (2):

A= T/B, unde:

T - corespunde formulei (I); **B**- bugetul anual al timpului de muncă al unei funcţii.

Bugetul anual al timpului de muncă (**B**) al medicului de laborator, felcerului-laborant şi laborantului pentru săptămâna de muncă de 5 zile constituie 229 zile (ca exemplu: din 365 zile se scad 111 zile de odihnă şi sărbători, 25 zile de concediu); pentru săptămâna de muncă de 35 ore bugetul anual al timpului de muncă alcătuieşte 96180 min.

Calcularea bugetului anual a timpului de muncă al personalului LDC este expus în tabelul 8.I. Rezultatul acestei analize serveşte pentru compararea numărului de funcţii:

- prevăzute de schema subdiviziunii;
- ocupate;
- calculate după volumul lucrului efectuat timp de 1 an.

Tabel 8.1

Calcularea bugetului anual al timpului de muncă pentru personalul medical din LDC

Funcţia de post	Bugetul anual total al timpului de muncă în funcţia de post (min)	Bugetul anual al timpului de muncă în funcţia de post pentru efectuarea cercetărilor (min)
Medic de laborator sau specialist cu studii superioare (cu durata săptămânii de muncă 35 ore)	229×7×60=96180	96180×75/100=72135
Specialist cu studii medii (cu durata săptămânii de muncă 35 ore)	229×7×60=96180	96180×80/100=77944

Pentru calcularea numărului de funcţii de post este necesar de a determina timpul cheltuit într-un an de personalul medical la efectuarea cercetărilor, după cum este indicat în tabelul 8.2.

Tabel 8.2

Timpul cheltuit de personalul medical din laboratoarele de diagnostic clinic la efectuarea investigaţiilor

Nr. d/o	Denumirea metodei de cercetare	Numărul de analize	Timpul (în min), cheltuit de specialiştii			
			Cu studii medii		Cu studii superioare	
			Pentru 1 analiză	În total	Pentru 1 analiză	În total
	Examenul urinii					
1.	Înregistrarea (preliminară şi finală a materialului de cercetare: datelor din paşaportul pacienţilor, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator	4100	3,5	14350,0	-	-
2.	Determinarea cantităţii, culorii, transparenţei, prezenţa sedimentului, densitatea relativă, pH	4100	3,0	12300,0	-	-
3.	Identificarea glucozei prin testul-expres: - primară - ulterioară	 229 3871	 2,5 1,0	 572,5 3871,0	-	-
4.	Identificarea proteinei cu acid sulfosalicilic: - primară - ulterioară	 229 3871	 6,5 4,5	 1488,5 17419,5		
4.1	Analize de control, analize de calibrare*	458 60	4,5 -	2061,0 -	- 6,5	- 390,0
5.	Microscopia sedimentului urinar. Cercetarea preparatului nativ: *În normă* *În patologie*	 2910 1190	 1,0 1,0	 2910,0 1190,0	 5,0 6,0	 14550,0 7140,0
	Examenul materiilor fecale					
6.	Examenul microscopic. Cercetarea a trei preparate	3200	5,0	16000,0	8,0	25600,0
	Explorări hematologice şi citochimice					
7.	Înregistrarea (preliminară şi finală a materialului de cercetare: datelor din paşaportul pacienţilor, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator	5800	3,5	20300,0		

8.	Recoltarea sângelui pentru explorări hematologice: 5 indici (hemoglobina, numărătoarea eritrocitelor, leucocitelor, formula leucocitară, VSH)	5800	4,0	23200,0	-	-
9.	Dozarea hemoglobinei prin metoda hemoglobincianidică - primară - ulterioară	 229 5571	 4,0 2,5	 916,0 13927,5		
9.1	Analize de control, analize de calibrare	290 290	2,5 -	725,0 -	- 4,0	- 1160,0
10.	Numărătoarea eritrocitelor în camera de numărat:	5800	9,5	55100,0	-	-
10.1	Analize de control, calibrare	290	9,5	2755,0		
11.	Numărătoarea leucocitelor în camera de numărat:	5800	6,0	34800,0		
11.1	Analize de control, calibrare	290	6,0	1740,0		
12.	Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)	5800	2,0	11600,0		
13.	Citirea formulei leucocitare cu descrierea morfologiei elementelor figurate	5800	5,0	29000,0	7,5	43500,0
13.1	Analize de control	290	-	-	12,5	3625,0
Cercetări biochimice						
14.	Înregistrarea preliminară și finală a materialului de cercetare (datelor din pașaportul pacienților, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator.	3200	3,5	11200,0		
15.	Prelucrarea sângelui venos pentru obținerea serului sanguin	3200	3,5	11200,0	-	-
16.	Dozarea proteinei totale prin metoda biuretului: -primară -ulterioară	 229 2971	 2,0 1,0	 458,0 2971,0	 3,0 2,0	 687,0 5924,0
16.1	Analize de control, analize de calibrare	229 60	1,0 -	229,0 -	2,0 5,0	458,0 300,0

17.	Dozarea glucozei: - primară - ulterioară	 229 2971	 2,0 1,0	 458,0 2971,0	 6,0 3,0	 1374,0 8913,0
17.1	Analize de control, analize de calibrare	458	-	-	8,0	3664,0
	TOTAL:			295713		117285

**Notă:* *Cota analizelor de control (controlul intra-laborator, participarea în programele externe de control, probele repetate pentru verificarea devierilor patologice) și de calibrare (efectuate nu mai rar de o dată la trimestru sau conform instrucțiunii setului) constituie de la 5% pînă la 25% din numărul total de investigații și variază în dependență de tipul de metodă.*

Timpul sumar, cheltuit la examinări, analize de control și calibrare, efectuat de medicul de laborator sau specialistul cu studii superioare cu ziua de muncă 7 ore constituie: 390+14550+7140+25600+1160+43500+...+3664 = 117285 min. Timpul sumar, cheltuit pentru efectuarea celorlalte examinări, efectuat de specialistul cu studii medii constituie: 14350+12300+572,5+3871+1488,5+...+2971 = 295713 min.

Pentru calcularea numărului funcțiilor de post pentru volumul de lucru descris în exemplul menționat mai sus, timpul sumar obținut se împarte la bugetul timpului de lucru anual al funcției de post respective (cheltuit la efectuarea analizelor de laborator).

Astfel, numărul funcțiilor de medic de laborator sau specialistul cu studii superioare cu ziua de muncă de 7 ore va fi egală cu 117285 / 72135 = 1,6; numărul funcțiilor de specialiști cu studii medii va constitui 295713 / 77944 = 3,8.

1.3. Elaborarea normelor de timp la aplicarea în practică a metodelor noi de cercetare

Lipsa normelor de timp pentru metodele noi de cercetare nu poate servi drept piedică la aplicarea lor în practică. În acest caz, normele de timp trebuie să fie elaborate în LDC și aprobate de administrația instituției medicale.

Elaborarea normelor noi de timp include efectuarea cronometrajului timpului factic cheltuit pentru executarea unor anumite elemente de muncă, prelucrarea statistică a acestor date, calcularea timpului cheltuit. Pentru efectuarea cronometrajului se întocmește lista operațiunilor tehnologice pentru fiecare metodă. După aceasta se pregătesc listele de măsurări cronometrice în cantități suficiente pentru efectuarea integrală a lucrului.

Numărul necesar de măsurări cronometrice se determină după formula (3):

$$X = 2500 \times \frac{K^2 \times (Kst-1)^2}{C^2 \times (Kst+1)^2}\ ,\quad \text{unde}$$

X - numărul necesar de măsurări cronometrice;

Kst- coeficientul normativ de stabilitate al seriei cronometrice;

C - exactitatea necesară a cercetărilor în %;

K - coeficientul care corespunde indicelui dat al probabilității (pentru indicele egal cu 0,95, k=2).

Pentru exactitatea cercetărilor $C = 10\%$ și coeficientul normativ de stabilitate al seriei cronometrice $Kst = 3$, numărul optimal de măsurări X constutuie 20-25. După efectuarea unui număr anumit de măsurări ale investigației clinico-diagnostice pentru fiecare operație de lucru obținem un șir de valori ale duratei ei, din care se alcătuește o serie variațională (seria cronometrică). Ca criteriu de apreciere a seriei cronometrice servește coeficientul de stabilitate Kst (formula 4):

$$Kst = \frac{T\max}{T\min},$$ adică raportul valorii maximale (Tmax) către cea minimală (Tmin) a seriei cronometrice.

Atunci când durata operațiunilor de muncă este mai mare decât 60 *s*, coeficientul trebuie să fie nu mai mare de 2, iar pentru elementele de muncă de la 21 și până la 60 *s* - nu mai mare de 2,2.

Timpul mediu cheltuit pentru o operațiune de muncă se calculează după metoda acceptată de statistică cu determinarea deviației standard (½) și a erorii medii a mediei aritmetice ($\bar{x}$). Se stabilește totodată coeficientul de frecvență a efectuării operațiunii de muncă (*K*), care reprezintă raportul numărului de operațiuni de muncă îndeplinite de fapt la numărul total de cercetări îndeplinite. Înmulțând timpul mediu al duratei operațiunii de muncă (*M*) la frecvența ei ($M \times K$) căpătam timpul mediu calculat pentru o operațiune de muncă.

Pentru facilitarea lucrului de elaborare în instituțiile medicale a normelor de timp calculate la însușirea metodelor noi de cercetare aducem mai jos normele de timp perfectate pe baza măsurărilor cronometrice pentru acele operațiuni de muncă, care se întâlnesc frecvent în majoritatea cercetărilor de laborator (tabel 8.3).

Tabel 8.3

Normele de timp calculate pentru unele operațiuni de muncă folosite în laboratoarele

Nr.d/o	Denumirea operațiunii de muncă	Timpul în secunde
1.	Pipetare:	
1.1.	Cu pipete de sticlă	17
1.2.	Cu pipete digitale semiautomate	14
1.3.	Dozatoare	5
1.4.	Dozare cu biureta	10
2.	Măsurări la fotoelectrocolorimetre (FEC):	
2.1.	Pregătirea FEC-ului pentru lucru	120
2.2.	Măsurărea la FEC	30
3.	Microscopia:	
3.1.	Pregătirea microscopului pentru lucru	105

1.4. Metodologia de calculare a sinecostului analizelor de laborator

Sinecostul analizelor de laborator se calculează după formula (5):

$S = V + Aam + Cex + Cm + Cal$, unde

S - sinecostul analizei; V - cheltuielile pentru remunerarea muncii;

A_{am} - cheltuielile de amortizare a echipamentului, utilajului;

C_{ex} - cheltuielile de exploatare pentru întreținerea echipamentului și inventarului;

C_{m} - cheltuielile materiale (cheltuielile pentru reactivi, sticlăria de laborator, articole din masă plastică, hârtie termică, detergenți etc.);

C_{al} - alte cheltueli.

Pentru determinarea cheltuielilor pentru remunerarea muncii este necesar de a cunoaște normele de timp cheltuit la efectuarea analizelor de laborator, fondul salarial anual ale personalului medical precum și bugetul anual al timpului de muncă al lucrătorilor care infăptuiesc cercetările de laborator.

La calcularea fondului salarial anual personalul medical se împarte în trei grupe:

- lucrătorii antrenați nemijlocit la efectuarea cercetărilor de laborator (medicii și personalul cu studii medicale medii);
- lucrătorii care participă la asigurarea activității laboratorului, dar care nemijlocit nu efectuează cercetările de laborator;
- lucrătorii care asigură activitatea instituției medicale.

Salariul funcției de șef de laborator se adună la salariul medicilor atunci, când șeful de laborator îndeplinește toate funcțiile puse pe seama medicului de laborator. În caz dacă șeful de laborator este eliberat de la îndeplinirea funcțiilor de medic și el se ocupă numai cu lucrul administrativ, salariul

funcției lui se adună la salariul infirmierelor, registratoarelor, etc., adică la grupul de personal, care nu participă nemijlocit la efectuarea cercetărilor de laborator.

Cheltuielile pentru remunerarea muncii se calculează după formula (6):

$$V = [A \times n_a + B \times n_b] \times [I + C] \times [I + d] \times [I + f],$$ unde

V - cheltuielile pentru remunerarea muncii personalului medical;

A - fondul salarial anual al funcției de medic (media pe laborator);

B - fondul salarial anual al funcției personalului cu studii medicale medii (media pe laborator);

n_a, n_b - raportul cheltuielilor de timp pentru efectuarea cercetărilor de laborator către bugetul anual al timpului de muncă a funcției de post respective;

C - raportul fondului salarial anual al tuturor lucrătorilor laboratorului, care nu participă nemijlocit la efectuarea cercetărilor către fondul salarial anual al lucrătorilor antrenați la efectuarea cercetărilor.

d - coeficientul de defalcări pentru asigurările sociale (este determinat de normativele în vigoare ale defalcărilor în fondurile sociale de asigurare medicală, în fondul de pensii, fondul de folosire a brațelor de muncă; la schimbarea acestor normative valoarea coeficientului trebuie să fie modificată).

f - coeficientul cheltuielilor de regie se calculează după formula (7):

$$f = \frac{E + Q}{S + E},$$ unde

f - coeficientul cheltuielilor de regie;

E - salariul personalului administrativ-gospodăresc al instituției cu defalcările pentru asigurările sociale;

Q - suma cheltuielilor pentru articolele devizului (bugetului) de venit și cheltuieli ale instituției (cheltuielele de birou și administrare, pentru delegații și călătorii de serviciu, reparația clădirilor și edificiilor, achiziționarea cărților, etc.);

S - salariul personalului instituției, inclusiv premiile, plățile cu caracter de stimulare.

Defalcările de amortizare pentru echipament (utilaj) se calcu-lează după formula (8):

$$Am = \frac{Io}{N_1} + \frac{Ib}{N},$$ unde:

Io - defalcări de amortizare pentru echipamentul de bază;

Ib - defalcări de amortizare pentru echipamentului auxiliar;

N - numărul de analize de tipul dat;

N_1 - numărul de analize, efectuate pe echipamentul de bază.

CHELTUIELILE DE EXPLOATARE pentru intreținerea ehipamentului și inventarului se calculează după formula (9):

$$C_{ex} = \frac{O}{N},$$ unde:

C_{ex} - cheltuielile de exploatare ca componentă a costului analizei;

O - cheltuielile de exploatare a echipamentului (exploatarea tehnică, asigurarea metrologică, etc.);

N - numărul de analize, efectuate pe echipamentul dat.

CHELTUIELILE MATERIALE *(Cm)* se formează din cheltuielile pentru materialele consumabile *(P)* şi cheltuielile pentru reactivi *(R)*:

$$Cm = P + R$$

Cheltuielile pentru materialele consumabile se calculează după formula (10):

$$P = \frac{D}{N},$$ unde:

P - cheltuielile pentru materialele consumabile, ca componente ale costului analizei;

D - cheltuielile pentru vesela de laborator, articole din masă plastică, articole de unică folosinţă, hârtie termică, etc.;

N - numărul de analize de tipul dat.

Cheltuielile pentru reactivi în mare măsură depind de metodele de analiză folosite. *La utilizarea seturilor de analize, destinate pentru efectuarea unui număr anumit de cercetări (10, 50, 100 etc.) este necesar de a lua în consideraţie toate cercetările, inclusiv cele repetate, paralele, de calibrare, de control al calităţii (intern şi extern), etc.*

Referitor la metodele unificate (standardizate) de cercetări de laborator se poate efectua calculul de reactivi necesari pentru 100 de analize. În celelalte cazuri trebuie de reieşit din cheltuielile factice de reactivi pentru tipul dat de cercetări. Pe lânga aceasta, *pentru efectuarea controlului intern de calitate (intralaborator) este nevoie de cheltuieli suplimentare pentru procurarea materialelor de control, costul cărora trebuie inclus în preţul de cost al analizei.*

CHELTUIELILE PENTRU REACTIVI ca componentă a costului analizei de laborator se calculează după formula (11):

$$R = \frac{W}{N} + \frac{m}{n},$$ unde:

R - cheltuielile pentru reactivi;

W - costul setului de reactivi;

N - numărul de analize ale pacienţilor, efectuate cu setul dat de reactivi;

m - costul materialelor de control;

n - numărul de cercetări, pentru care s-au folosit aceste materiale de control.

ALTE CHELTUIELI. În sinecostul investigaţiilor de laborator trebuie să fie incluse şi alte componente, de exemplu, cheltuielile legate de participarea la Sistemul Naţional al Controlului Extern de Calitate, controlul inter-laborator, cheltuielile ce ţin de aplicarea în practică a metodelor noi de cercetări de laborator, aparaturii şi a test-sistemelor noi, etc.

NORMELE DE TIMP CALCULATE PENTRU CERCETĂRILE DE LABORATOR CLINIC

№	Denumirea investigaţiilor	Durata efectuării unei investigaţii (min) pentru specialistul		
		Cu studii medii	Cu studii superioare	Total
I. Metode generale de laborator clinic				
	A. Examenul urinei			
1.	Înregistrarea (preliminară şi finală a materialului de cercetare: datelor din paşaportul pacienţilor, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator	3,5	-	3,5

2.	Proprietățile fizice ale urinei: volumul, culoarea, transparența, densitatea specifică, determinarea pH-ui	3,0	-	3,0
3.	Identificarea glucozei (metoda calitativă) - primară - ulterioară	 2,5 1,0	 - -	 2,5 1,0
4.	Dozarea glucozei (metoda cantitativă) - primară - ulterioară	 3,0 2,0	 -	 3,0 2,0
5.	Identificarea proteinelor (metoda calitativă) - primară - ulterioară	 2,5 1,0	 -	 2,5 1,0
6.	Dozarea proteinelor (metoda cantitativă) prin diluție	4,0	-	4,0
7.	Dozarea proteinelor (metoda cantitativă) colorimetrie - primară - ulterioară	 6,5 4,5	 -	 6,5 4,5
8.	Identificarea proteinei Bens-Jones	12,0	-	12,0
9.	Identificarea corpilor cetonici - primară - ulterioară	 2,5 1,0	 -	 2,5 1,0
10.	Identificarea bilirubinei: - expres metoda - cu reactivul Lugol - cu reactivul Fouchet	 2,5 2,0 5,0	 - - -	 2,5 2,0 5,0
11.	Identificarea corpilor urobilinici: - expres-metoda - prin reacția Bogomolov	 2,5 3,0	 - -	 2,5 3,0
12.	Identificarea indicanului după reacția Iaffe	3,0	-	3,0
13.	Microscopia sedimentului urinar în normă (epiteliu, eritrocite, leucocite, cilindri, etc.)	1,0	5,0	6,0
14.	Microscopia sedimentului urinar în patologie (epiteliu, eritrocite, leucocite, cilindri, etc.)	1,0	6,0	7,0
15.	Numărătoarea elementelor figurate (eritrocitelor, leucocitelor, cilindrilor) – proba Neciporenko	2,5	12,0	14,5
16.	Proba Zimnițki	10,0	-	10,0
17.	Testarea urinei la analizor (pînă la 11 indici) fără microscopia sedimentului urinar	4,0	-	4,0
	B. Explorarea secreției gastrice			
18.	Proprietățile fizice (cantitatea, culoarea, mirosul, prezența mucozității, elementelor patologice	3,0	-	3,0
19.	Determinarea acidității totale, HCl liber, HCl legat prin metoda de titrare	3,0	-	3,0
20.	Determinarea pepsinei	-	10,0	10,0
21.	Examenul microscopic al sucului gastric (leucocite, eritrocite, celule epiteliale, microorganisme, rămășițe alimentare etc.)	-	5,0	5,0
	C. Explorarea sucului duodenal			
22.	Proprietățile fizice: cantitatea, culoarea, consistența, densitatea relativă, pH-ul, prezența mucozității, elementelor patologice	3,0	-	3,0
23.	Examenul microscopic (leucocite, eritrocite, celule epiteliale, cristale, protozoare lamblii, helminți)	-	15,0	15,0

	D. Examenul lichidului cefalo-rahidian			
24.	Proprietățile fizice: aspectul și culoarea, transparența, densitatea relativă, formarea vălului de fibrină	3,0	-	3,0
25.	Identificarea proteinelor după reacția Pandy	2,5	-	2,5
26.	Dozarea proteinelor cu acid sulfosalicilic	6,5	-	6,5
27.	Dozarea glicorahiei	-	6,0	6,0
28.	Dozarea clorurilor	-	6,0	6,0
29.	Determinarea numărului de elemente celulare (citozei) și numărătoarea lor diferențiată în preparatul nativ	3,0	12,0	15,0
30.	Microscopia preparatului colorat	5,0	7,0	12,0
	E. Examenul lichidelor patologice de puncție (exudatelor și transudatelor)			
31.	Proprietățile fizice: volumul, caracterul, culoarea, transparența, densitatea relativă	2,0	-	2,0
32.	Identificarea proteinelor (metoda calitativă), proba Rivalt	4,0	-	4,0
33.	Dozarea proteinelor (metoda cantitativă) prin diluție	4,0	-	4,0
34.	Examenul microscopic (eritrocite, leucocite, celule mezoteliale, celule neoplastice, picături de lipide, druze de actinomicete)	4,0	8,0	12,0
35.	Microscopia preparatului colorant	5,0	20,0	25,0
	F. Examenul lichidelor sinoviale			
36.	Proprietățile fizice: cantitatea, aspectul, transparența, densitatea relativă, prezența chiagului de mucină, viscozitatea	10,0	-	10,0
37.	Citoza	15,0	-	15,0
38.	Numărătoarea fagocitelor	-	7,0	7,0
39.	Citirea formulei leucocitare	4,0	7,0	11,0
	G. Examenul sputei			
40.	Proprietățile fizice: cantitatea, culoarea, aspectul, consistența, mirosul, depunerea în straturi.	3,0	-	3,0
41.	Examenul microscopic (prezența fibrelor elastice, elementelor astmatice, eritrocite, leucocite, celule ale epiteliului cilindric, cristale, druze de actinomicete, levuri, elemente ale echinococului, celule neoplastice): - Microscopia preparatului nativ - Microscopia preparatului colorat	 1,5 4,0	 7,0 6,0	 8,5 10,0
42.	Examenul sputei la Mycobacterium tuberculosis: - în preparate colorate (2 preparate) - prin metoda flotației	 4,0 15,0	 10,0 6,0	 14,0 21,0
43.	Identificarea hemosiderinei	4,0	8,0	12,0
	H. Examenul materiilor fecale			
44.	Proprietățile fizice: aspectul, cantitatea, culoarea, consistența, mirosul, pH-ul	4,0	-	4,0
45.	Identificarea sângelui	3,0	-	3,0
46.	Identificarea bilirubinei, stercobilinei	3,0	-	3,0
47.	Identificarea substanțelor proteice (Tribule-Vișneakov)	5,0	2,0	7,0
48.	Examenul microscopic – coprologia (reziduuri alimentare, mucus, eritrocite, leucocite, epiteliu			

49.	Depistarea protozoarelor	5,0	5,0	10,0
50.	Depistarea ouălor de helminți	5,0	8,0	13,0
51.	Cercetarea la enterobioză (3 preparate)	5,0	8,0	13,0
	I. Examenul secrețiilor genitale și urogenitale			
52.	Examinarea la Trichomonas și gonococi - primar - ulterior	 5,0 2,0	 10,0 6,0	 15,0 8,0
53.	Determinarea profilului hormonal	-	10,0	10,0
54.	Cercetarea secretului prostatei	-	15,0	15,0
55.	Determinarea cantității, culorii, mirosului, viscozității, pH-ul ejaculatului	5,0	-	5,0
56.	Examenul microscopic al ejaculatului, numărătoarea spermatozoizilor, determinarea mobilității și a spermatozoizilor "vii" și "morți", stimularea mobilității spermatozoizilor ("reanimarea" lor)	-	40,0	40,0
	II. Explorări hematologice și citochimice			
	A. Cercetări hematologice			
1.	Recoltarea sângelui din deget pentru cercetările hematologice: - la 5 parametri - un parametru	 4,0 2,0	 - -	 4,0 2,0
2.	Înregistrarea (preliminară și finală a materialului de cercetare: datelor din pașaportul pacienților, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator	3,5	-	3,5
3.	Dozarea hemoglobinei în sânge: - primară - ulterioară	 4,0 2,5	 - -	 4,0 2,5
4.	Numărătoarea eritrocitelor: - în camera de numărat - la contor semiautomat	 9,5 4,0	 - -	 9,5 4,0
5.	Determinarea hematocritului	6,5	-	6,5
6.	Calcularea indicilor eritrocitari (concentrației medie de hemoglobină într-un eritrocit, conținutul mediu de hemoglobină într-un eritrocit, calcularea volumului mediu al eritrocitului)	-	3,0	3,0
7.	Determinarea diametrului eritrocitar în frotiul colorat	-	20,0	20,0
8.	Construirea curbei de distribuire a eritrocitelor după marimea diametrului (curba Price-Jones)	-	16,0	16,0
9.	Determinarea rezistentei osmotice a eritrocitelor	30,0	10,0	40,0
10.	Numărătoarea eritrocitelor cu granulație bazofilă	3,0	13,0	16,0
11.	Numărătoarea reticulocitelor - primară - ulterioară	 5,0 3,0	 9,0 7,0	 14,0 10,0
12.	Numărătoarea trombocitelor – frotiu colorat - primară - ulterioară	 7,0 2,0	 11,0 9,0	 18,0 11,0

13.	Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)	2,0	-	2,0
14.	Numărătoarea leucocitelor: - în camera de numărat - la contor semiautomat	 6,0 4,0	 - -	 6,0 4,0
15.	Caracteristica morfologică a leucocitelor în sângele periferic (formula leucocitară): - descrierea elementelor - descrierea elementelor pentru bolnavii hematologici	 5,0 5,0	 7,5 13,5	 12,5 18,5
16.	Numărătoarea mielocariocitelor	-	14,0	14,0
17.	Numărătoarea megacariocitelor	-	14,0	14,0
18.	Citirea mielogramei şi caracteristica hematopoezei medulare	5,0	60,0	65,0
19.	Depistarea celulelor lupice (LE) - primară - ulterioară	 35,0 15,0	 15,0 15,0	 50,0 30,0
20.	Cercetarea sângelui la paraziţii malariei	5,0	15,0	20,0
21.	Determinarea hemoglobinei fetale în lizatul eritrocitar	-	12,0	12,0
22.	Cercetările hematologice la analizoarele hematologice: - proba unui pacient la analizor cu productivitatea de pînă la 60 analize pe oră; -proba unui pacient la analizor cu 2 canale şi diluarea semiautomată; -proba unui pacient la analizor cu 2 canale şi diluarea automată.	 5,0 5,5 4,0	 0,5 0,5 0,5	 5,5 6,0 4,5
	B. Cercetări citochimice ale celulelor sanguine şi ale măduvii osoase			
23.	Determinarea activităţii glucozo-6-fosfat dehidrogenazei în eritrocite	17,0	15,0	32,0
24.	Determinarea activităţii fosfatazei alcaline: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	 10,0 10,0	 10,0 10,0	 20,0 20,0
25.	Determinarea activităţii fosfatazei acide: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	 15,0 15,0	 30,0 15,0	 45,0 30,0
26.	Determinarea activităţii alfa-naftil-acetat esterazei: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	 15,0 15,0	 20,0 20,0	 35,0 35,0
27.	Determinarea activităţii alfa-naftil-AS-D-cloracetatesterazei: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	 15,0 15,0	 20,0 20,0	 35,0 35,0
28.	Determinarea activităţii peroxidazei: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	 15,0 15,0	 20,0 20,0	 35,0 35,0
29.	Determinarea activităţii succinatdehidrogenazei: - în sângele periferic	 10,0	 25,0	 35,0
30.	Determinarea activităţii alfa-glicerofosfat-dehidrogenazei în sângele periferic	15,0	20,0	35,0

31.	Dozarea lipidelor: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	6,0 6,0	20,0 20,0	26,0 26,0
32.	Dozarea mucopolizaharidelor neutre: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	17,0 17,0	20,0 20,0	37,0 37,0
33.	Determinarea siderocitelor și sideroblaștilor: - în sângele periferic - în frotiurile măduvei osoase	17,0 17,0	20,0 20,0	37,0 37,0
	III. Investigații citologice	Durata efectuării unei investigații (min) pentru specialistul		
		Cu studii medii	Cu studii superioare	
		Toate preparatele la un pacient	Un preparat la un pacient	Următoarele preparate la un pacient
1.	Cercetarea punctatelor formațiunilor tumorale și infiltrațiilor de orice localizare: piele, glandă mamară; ficat, rinichi, plămâni, tumori retroperitoneale, tumori ale mediastinului, glandei tiroide, prostată, testicul, ovare, ganglioni limfatici, amigdale, țesuturi moi, oase	20,0 20,0	20,0 35,0	8,0 10,0
	Citologia exfoliativă			
2.	Cercetarea materialului recoltat în timpul examinării ginecologice: - înregistrarea (preliminară și finală a materialului de cercetare:datelor din pașaportul pacienților, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator; - colorarea frotiului; - microscopia frotiului.	3,5 1,5 6,0	- - 20,0	- - -
3.	Cercetarea transudatelor, exudatelor, secretelor, excretelor	30,0	20,0	8,0
4.	Cercetarea raclatelor și eliminărilor de pe suprafața eroziunilor, ulcerelor, rănilor și fistulelor	20,0	20,0	6,0
5.	Cercetările citologice la examinarea endoscopică a pacienților: cercetarea materialului căpătat prin laringoscopie, bronhoscopie, esofagoscopie, gastroscopie, duodenoscopie, laparoscopie, colonoscopie și al.(amprente de pe bioptat, raclate, aspirație, punctate transbronșice și al.)	20,0	25,0	8,0
	Investigații citochimice a materialului citologic			
6.	Determinarea mucopolisaharidelor în celule	17	15	-
7.	Determinarea lipidelor	15	6	-
8.	Determinarea activității fosfatazei acide	15	10	-
9.	Determinarea activității fosfatazei alcaline	15	10	-
10.	Determinarea activității peroxidazei	15	10	

11.	Determinarea hemosiderinei	15	6	
12.	Investigații imunomorfologice cu anticorpi monoclonali	120	35	-

	IV. Investigații biochimice	Durata efectuării unei investigații (min) pentru specialistul		
		Cu studii medii	Cu studii superioare	Total
1.	Recoltarea sângelui venos	3,5	-	3,5
2.	Prelucrarea sângelui pentru obținerea serului sau plasmei	3,5	-	3,5
3.	Înregistrarea preliminară și finală a materialului de cercetare (datelor din pașaportul pacienților, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator.	3,5	-	3,5
4.	Dozarea proteinelor totale în serul sanguin: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 3,0 2,0	 5,0 3,0
5.	Determinarea albuminei în serul sanguin: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 3,0 2,0	 5,0 3,0
6.	Determinarea fracțiunilor proteice în serul sanguin prin metoda de electroforeză pe pelicule de acetatceluloză: - primară - ulterioară	 3 1	 40,0 4,0	 43,0 5,0
7.	Determinarea mioglobinei în serul sanguin	2,0	12,0	14,0
8.	Determinarea troponinelor I și M în serul sanguin - testul expres	-	12,0	12,0
9.	Proba cu timol: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 3,0 2,0	 5,0 3,0
10.	Proba cu sublimat corosiv: - primară - ulterioară	 5,0 2,0	 - -	 5,0 2,0
11.	Dozarea ureei în ser și urină prin metoda enzimatică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 6,0 3,0	 8,0 4,0
12.	Dozarea ureei în ser și urină prin metoda cu diacetilmonooximă: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 6,0 3,0	 8,0 4,0
13.	Dozarea creatininei în ser și urină: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 7,0 5,0	 9,0 6,0
14.	Dozarea acidului uric în ser și urină: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 7,0 5,0	 9,0 6,0
15.	Dozarea glucozei în ser, urină, lichid cefalorahidian (glucozooxidaza): - primară	 2,0	 6,0	 8,0

	- ulterioară	1,0	3,0	4,0
16.	Dozarea acizilor sialici în serul sanguin: - primară - ulterioară	 5,0 3,0	 5,0 3,0	 10,0 6,0
17.	Dozarea seromucoizilor în ser: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 10,0 8,0	 12,0 9,0
18.	Dozarea hemoglobinei glicozilate	2,0	10,0	12,0
19.	Dozarea beta-lipoproteinelor în ser: - primară - ulterioară	 7,0 4,0	 - -	 7,0 4,0
20.	Dozarea fracțiunilor lipoproteinelor în ser: - primară - ulterioară	 - -	 20,0 15,0	 20,0 15,0
21.	Dozarea colesterolului total în ser: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 5,0 3,0	 7,0 4,0
22.	Dozarea fracțiunilor colesterolului în ser - primară - ulterioară	 - -	 15,0 10,0	 15,0 10,0
23.	Dozarea colesterolului lipoproteidelor cu densitatea înaltă (alfa –colesterolul)	2,0	8,0	10,0
24.	Dozarea Apo-A în serul sanguin	2,0	10,0	12,0
25.	Dozarea Apo-B în serul sanguin	2,0	10,0	12,0
26.	Dozarea lipidelor totale în ser: - primară - ulterioară	 3,0 2,0	 10,0 4,0	 13,0 6,0
27.	Dozarea trigliceridelor în ser: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 6,0	 10,0 7,0
28.	Dozarea fosfolipidelor totale în ser: - primară - ulterioară	 5,0 3,0	 10,0 7,0	 15,0 10,0
29.	Dozarea bilirubinei totale în ser și a fracțiunilor: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 7,0 5,0	 9,0 6,0
30.	Determinarea porfirinelor în eritrocite, urină, fecale	5,0	15,0	20,0
31.	Determinarea acidului delta-aminolevulinic în urină	2,0	13,0	15,0
32.	Determinarea calitativa a uroporfirinei și coproporfirinei în urină	5,0	10,0	15,0
33.	Dozarea moleculelor cu masa medie în serul sanguin	2,0	10,0	12,0
34.	Dozarea sodiului sau potasiului în ser, plasmă, urină, eritrocite prin fotometrie: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 5,0 4,0	 7,0 5,0
35.	Dozarea sodiului și potasiului în ser, plasmă, urină, eritrocite metoda ionselectivă:	3,0	-	3,0
36.	Dozarea clorului în ser, lichid cefalorahidian:			

	- primară - ulterioară	2,0 1,0	6,0 4,0	8,0 5,0
37.	Dozarea calciului în ser: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 6,0 4,0	 8,0 5,0
38.	Dozarea calciului ionizat în sânge	2,0	10,0	12,0
39.	Dozarea magneziului în ser, plasmă, urină: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 6,0 4,0	 8,0 5,0
40.	Dozarea fosforului anogranic in ser și urină: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 6,0 4,0	 8,0 5,0
41.	Dozarea fierului în ser: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 5,0	 10,0 6,0
42.	Determinarea capacității serului sanguin de combinare cu fierul: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 10,0 8,0	 12,0 9,0
43.	Dozarea feritinei în ser	2,0	15,0	17,0
44.	Dozarea transferinei în ser, plasmă	2,0	15,0	17,0
45.	Dozarea zincului în ser	2,0	5,0	7,0
46.	Dozarea litiului în ser	2,0	13,0	15,0
47.	Dozarea cuprului în ser	2,0	5,0	7,0
48.	Dozarea ceruloplasminei în ser	2,0	13,0	15,0
49.	Dozarea acidului lactic în ser	2,0	13,0	15,0
50.	Dozarea acidului piruvic în ser	2,0	13,0	15,0
51.	Dozarea D-xilozei	-	40,0	40,0
52.	Dozarea mercurului în sânge, urină și tesuturi	-	35,0	35,0
53.	Dozarea arseniului în sânge, urină și tesuturi	-	15,0	15,0
54.	Dozarea plumbului în sânge, urină și tesuturi	2,0	13,0	15,0
55.	Dozarea nitraților în ser și urină	2,0	13,0	15,0
56.	Dozarea methemoglobinei în sânge	2,0	8,0	10,0
57.	Determinarea alcaloizilor în materialul biologic	2,0	15,0	17,0
58.	Determinarea somniferelor și preparatelor sedative în materialul biologic	2,0	13,0	15,0
59.	Dozarea mioglobinei în ser	-	20,0	20,0
60.	Dozarea troponinei în ser, metoda cantitativă	-	20,0	20,0
61.	Determinarea activității α- amilazei în ser, plasmă, urină, conținutul duodenal prin metoda amiloclastică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 4,0	 10,0 5,0
62.	Determinarea activității ALT în ser, metoda Raitman-Frenkel: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 4,0	 10,0 5,0
63.	Determinarea activității AST în ser, metoda Raitman-Frenkel: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 4,0	 10,0 5,0

64.	Determinarea activității gama-glutamiltrans-peptidazei în ser, metoda colorimetrică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 10,0 6,0	 12,0 7,0
65.	Determinarea activității gama-glutamiltrans-peptidazei în ser, metoda colorimetrică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 4,0	 10,0 5,0
66.	Determinarea activității creatinkinazei și izoenzimelor ei în ser, metoda colorimetrică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 8,0 4,0	 10,0 5,0
67.	Determinarea activității lactatdehidrogenazei în ser, metoda colorimetrică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 20,0 15,0	 22,0 16,0
68.	Determinarea activității lipazei în ser, metoda colorimetrică - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 13,0 7,0	 15,0 8,0
69.	Determinarea activității fosfatazei acide și fracțiunilor ei în ser, metoda colorimetrică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 18,0 9,0	 20,0 10,0
70.	Determinarea activității fosfatazei alcaline și fracțiunilor ei în ser, metoda colorimetrică: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 18,0 7,0	 20,0 8,0
71.	Determinarea activității 5'-nucleotidazei în ser	2,0	18,0	20,0
72.	Determinarea activității leucinaminopeptidazei în ser	2,0	8,0	10,0
73.	Determinarea activității fructozo-1-fosfataldolazei în ser	2,0	18,0	20,0
74.	Determinarea activității glutamatdehidrogenazei în ser	2,0	10,0	12,0
75.	Determinarea activității alcooldehidrogenazei în ser	2,0	16,0	18,0
76.	Determinarea activității glucozo-6- fosfat-dehidrogenazei în hemolizatul eritrocitelor	4,0	20,0	24,0
77.	Determinarea activității sorbitoldehidrogenazei în serul sanguin	2,0	18,0	20,0
78.	Determinarea activității catalazei în ser, eritrocite, urină	4,0	10,0	14,0
79.	Determinarea activității pseudocolinesterazei în ser	2,0	10,0	12,0
80.	Determinarea activității tripsinei în ser, în conținutul duodenal	2,0	15,0	17,0
81.	Determinarea inhibitorului tripsinei în ser	4,0	16,0	20,0
82.	Determinarea activității lipoproteinlipazei în serul sanguin	2,0	18,0	20,0
83.	Determinarea activității beta-glicozidazei în ser, urină, plasma spermă	4,0	20,0	24,0

84.	Determinarea echilibrului acido-bazic la analizator: - primară - ulterioară	- -	12,0 10,0	12,0 10,0
85.	Efectuarea unui indice biochimic la analizor biochimic semiautomat: - după punct final - prin reacție cinetică	- -	3,5 4,5	3,5 4,5
86.	Efectuarea unui indice biochimic la analizor biochimic automat cu productivitatea: - de pînă la 100 analize pe oră - de pînă la 300 analize pe oră - mai mult de 300 analize pe oră	0,8 0,6 0,5	0,8 0,6 0,5	1,6 1,2 1,0
	Cercetarea hormonilor			
87.	Dozarea hormonilor în ser prin metoda imunoenzimatică: adrenocorticotrop ACTH, luteinizant (LH), foliculostimulant (FSH), prolactinei, estradiolului, progesteronului, testosteronului, aldosteronului, gonadotropinei horionice, T_4, T_3, TSH, insulinei, și alți hormoni cercetați prin metoda imunoenzimatică - la analizor automat - la analizor semiautomat	4,0 4,0	3,0 8,0	7,0 12,0
88.	Dozarea hormonilor în ser, urină prin metoda radioimunologică: adrenocorticotrop ACTH, luteinizant (LH), foliculostimulant (FSH), prolactinei, estradiolului, progesteronului, testosteronului, aldosteronului, gonadotropinei horionice, T_4, T_3, TSH, insulinei, și alți hormoni cercetați prin metoda radioimunologică:	3,0	6,0	9,0
89.	Dozarea aldosteronului în ser prin metoda cromatografică	5 ore	5 ore	10 ore
90.	Dozarea 17-hidroxicorticosteroizilor în plasma sanguină, urină, lichidul amniotic	20,0	5,0	25,0
91.	Dozarea 11-hidroxicorticosteroizilor în ser, plasmă, urină prin metoda radioimună	5,0	6,0	11,0
92.	Dozarea dehidroepiandrosteronului în urină	20,0	5,0	25,0
93.	Dozarea 17-cetosteroizilor în urină	18,0	5,0	23,0
94.	Dozarea catecolaminelor și a precursorilor lor (DOPA, dopaminei, noradrenalinei și adrenalinei) în ser, plasmă, urină, lacrimă, lichidul cefalorahidian, lichidul amniotic	5,0	45,0	50,0
95.	Dozarea acidului vanililmindalic în ser, urină	30,0	10,0	40,0
96.	Dozarea serotoninei în ser, urină, acidului 5-hidroxiindolil-acetic, histaminei prin metoda fluorimetrică	5,0	45,0	50,0
97.	Determinarea activității reninei prin metoda radioimună	2,0	5,0	7,0
98.	Cercetarea hormonilor la analizor automat	2,0	2,0	4,0
	V. Cercetările coagulologice			
1.	Recoltarea probei primare	3,5	-	3,5
2.	Obținerea plasmei (proba secundară)	2,0	-	2,0

3.	Înregistrarea preliminară și finală a materialului de cercetare(datelor din pașaportul pacienților, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator.	3,5	-	3,5
4.	Timpul de sângerare după Duke	10,0	-	10,0
5.	Timpul de coagulare a sângelui periferic	10,0	-	10,0
6.	Timpul de coagulare după Lee-Wite	10,0	-	10,0
7.	Determinarea receptorilor trombocitelor IIb/IIIA,Ib: - primară - ulterioară	 - -	 70,0 3,0	 70,0 3,0
8.	Determinarea f. Wiellebrand	5,0	20,0	25,0
9.	Retracția chiagului de sânge	20,0	5,0	25,0
10.	Determinarea capacității de adeziune (retenție) a trombocitelor	3,0	5,0	8,0
11.	Agregarea (agregația) spontană a trombocitelor	3,0	5,0	8,0
12.	Agregarea trombocitelor în prezența agoniștilor: ADP, colagen, adrenalina, ristocetina (ristomicina), acid arahidonic, ionoforul de calciu, serotonina, trombina, factorul leucocitar de agregație (FAT)	5,0	10,0	15,0
13.	Timpul de recalcificare activat (TRA): - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 9,0 5,0	 11,0 6,0
14.	Timpul de tromboplastină parțial activat (TTPA): - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 9,0 5,0	 11,0 6,0
15.	Timpul de protrombină (de tromboplastină), indicele protrombinic, raportul protrombinic normalizat (RPN): - primară - ulterioară - automat	 2,0 1,0 -	 5,0 3,0 4,0	 7,0 4,0 4,0
16.	Diagnosticul diferențial al deficitului f. V, VIII, IX, X, XI	2,0	15,0	17,0
17.	Diagnosticul diferențial al deficitului f. VII, X, V sau II pe baza testelor cu coagulaza veninului de șarpe (lebetox, ehitox) și timpului de protrombină	2,0	15,0	17,0
18.	Diagnosticul diferențial al deficitului f. VIII, IX, XI pe baza TTPA cu amestec de eritrofosfatidă și caolină	5,0	20,0	25,0
19.	Determinarea f. Va în plasma sanguină cu folosirea plasmei deficitare în f.V	2,0	10,0	12,0
20.	Anomalia f. Va Leyden (analiza PCR): - primară - ulterioară	 - -	 180,0 90,0	 180,0 90,0
21.	Anomalia f. II (analiza PCR) : - primară - ulterioară	 - -	 180,0 90,0	 180,0 90,0
22.	Testul cu etanol	2,0	3,0	5,0
23.	Testul cu protamin sulfat	2,0	4,0	6,0

24.	Determinarea f. XIII (factorul de stabilizare a fibrinei)	2,0	18,0	20,0
25.	Timpul de trombină cu soluție de trombină standard: - primară - ulterioară	 - -	 12,0 8,0	 12,0 8,0
26.	Timpul de trombină cu sulfat de protamină: - primară - ulterioară	 - -	 14,0 10,0	 14,0 10,0
27.	Dozarea fibrinogenului prin metoda gravidimetrică: - primară - ulterioară - automat	 8,0 6,0 -	 - - 4,0	 8,0 6,0 4,0
28.	Timpul de reptilază cu coagulaza veninului de botrox (botroxclotaza)	3,0	10,0	13,0
29.	Determinarea antitrombinei III: - primară - ulterioară	 - -	 55,0 20,0	 55,0 20,0
30.	Determinarea anticoagulantului "lupic"	3,0	15,0	18,0
31.	Liza euglobulinică (activitatea fibrinolitică): - primară - ulterioară	 2,0 2,0	 13,0 8,0	 15,0 10,0
32.	Liza euglobulinică stimulată cu streptochinază	2,0	18,0	20,0
33.	Liza euglobulinică stimulată cu f.XIIa-calikreină	2,0	18,0	20,0
34.	Liza euglobulinică stimulată prin compresia dozată a extremităților (proba cu manșeta)	2,0	18,0	20,0
35.	Determinarea complexelor solubile de monomeri ai fibrinei: - primară - ulterioară	 - -	 18,0 16,0	 18,0 16,0
36.	Produsele de degradare a fibrinogenului (fibrinei) prin metoda ELISA pentru o cercetare în serie la efectuarea a două determinări paralele	4,0	4,0	8,0
37.	Determinarea plasminei, plasminogenului: - primară - ulterioară	 - -	 50,0 20,0	 50,0 20,0
38.	Dozarea alfa$_2$- antiplasminei: - primară - ulterioară	 - -	 42,0 20,0	 42,0 20,0
39.	Determinarea antigenului activatorului tisular al plasminogenului (tPA)	-	40,0	40,0
40.	Determinarea heparinei în serul sangvin: - primară - ulterioară	 - -	 8,0 6,0	 8,0 6,0
41.	Dozarea f.V în plasma sangvină cu utilizarea plasmei deficiente în f.V	-	15,0	15,0
42.	Dozarea f.VIII în plasma sangvină cu utilizarea plasmei deficiente în f.VIII	-	15,0	15,0
43.	Dozarea f.IX în plasma sangvină cu utilizarea plasmei deficiente în f.IX	-	15,0	15,0
44.	Dozarea f.X în plasma sangvină cu utilizarea plasmei deficiente în f.X	-	15,0	15,0

45.	Determinarea produselor de degradare a fibrinogenului (fibrinei)	5,0	10,0	15,0
46.	Dozarea inhibitorului activatorului plasminogenului 1 şi 2 (PAI 1, PAI 2): - activitatea - antigenul	 - -	 70,0 40,0	 70,0 40,0
	VI. Cercetările imunologice pentru diagnosticul maladiilor neinfecţioase şi reacţiile imunităţii nespecifice	Durata efectuării unei investigaţii (min) pentru specialistul		
		Cu studii medii	Cu studii superioare	Total
1.	Prelucrarea sângelui venos	3,5	-	3,5
2.	Înregistrarea preliminară şi finală a materialului de cercetare (datelor din paşaportul pacienţilor, rezultatelor cercetărilor etc.) manuală (în registre, formulare) sau la computator.	3,5	-	3,5
3.	Determinarea grupelor sangvine ale sistemei ABO cu seruri standarde: - primară - ulterioară	 - -	 13,0 8,0	 13,0 8,0
4.	Determinarea grupelor sangvine ale sistemei ABO cu utilizarea ţolicloanelor: - primară - ulterioară	 - -	 11,0 7,0	 11,0 7,0
5.	Determinarea Rh-factorului cu ser anti-Rh standard - primară - ulterioară	 - -	 15,0 8,0	 15,0 8,0
6.	Determinarea Rh-factorului cu utilizarea ţoliclonului: - primară - ulterioară	 - -	 11,0 7,0	 11,0 7,0
7.	Determinarea Rh-factorului cu gelatină: - primară - ulterioară	 - -	 15,0 10,0	 15,0 10,0
8.	Determinarea factorului Rh cu reagentul universal standard (metoda expres)	-	10,0	10,0
9.	Determinarea anticorpilor compleţi izoimuni anti-A şi anti-B prin reacţia de hemaglutinare în mediu salin	-	35,0	35,0
10.	Determinarea subgrupelor sistemului de antigeni al eritrocitelor	-	35,0	35,0
11.	Proba Coombs directă: - primară - ulterioară	 - -	 35,0 7,0	 35,0 7,0
12.	Proba Coombs indirectă: - - primară - ulterioară	 - -	 70,0 20,0	 70,0 20,0
13.	Determinarea anticorpilor rezus incompleţi prin metoda aglutinării cu gelatină: - primară - ulterioară	 - -	 35,0 10,0	 35,0 10,0

14.	Determinarea titrului anticorpilor rezus: - primară - ulterioară	- -	40,0 17,0	40,0 17,0
15.	Alegerea donatorului după testul Coombs	-	90,0	90,0
	Rezistenta nespecifică			
16.	Determinarea proteinelor cationice lizozomale	-	50,0	50,0
17.	Determinarea anticorpilor naturali normali (micrometoda)	-	7,0	7,0
18.	Determinarea activității complementare a serului sanguin prin metoda titrarii după 50% hemoliză: - primară - ulterioară	25,0 15,0	50,0 10,0	75,0 25,0
19.	Determinarea factorilor complementului prin nefelometrie	-	14,0	14,0
20.	Determinarea lizozimei cu Micrococcus lyzodeiticus	-	14,0	14,0
21.	Determinarea activității fagocitare a neutrofilelor cu cultura St.aureus: - primară - ulterioară	40,0 20,0	55,0 25,0	95,0 45,0
22.	Determinarea activității fagocitare a leucocitelor prin metoda vizuală directă: - primară - ulterioară	80,0 28,0	44,0 24,0	124,0 52,0
23.	Testul cu nitroblutetrazol (NBT-test):	16	11	27
	Imunitatea celulară			
24.	Determinarea numărului de limfocite T și B în sângele periferic prin metoda E-formarea rozetelor - pentru pregătirea hemosistemei de 2 ori în săptămână	16,0 180,0	11,0 -	27,0 180,0
25.	Determinarea limfocitelor T totale prin metoda de rozetare	20,0	27,0	47,0
26.	Determinarea limfocitelor T active prin metoda de rozetare	10,0	25,0	35,0
27.	Determinarea limfocitelor T termostabile prin metoda de rozetare	10,0	25,0	35,0
28.	Determinarea limfocitelor T teofilinrezistente și teofilinsensibile prin metoda de rozetare	20,0	27,0	47,0
29.	Determinarea limfocitelor B prin metoda de rozetare complementară	20,0	30,0	50,0
30.	Determinarea limfocitelor B mature prin metoda de rozetare cu eritrocite de șoarece	20,0	27,0	47,0
31.	Determinarea limfocitelor T și B, subpopulațiilor cu anticorpi monoclonali	80,0	100,0	180,0
32.	Determinarea transformării blastice a limfocitelor cu lectine, antigene specifice (metoda microscopică)	80,0	100,0	180,0
33.	Determinarea inhibiției migrației leucocitelor în capilare	40,0	80,0	120,0
34.	Determinarea sensibilității limfocitelor la imunomodulatori și alte preparate medicale prin	20,0	27,0	47,0

35.	Citotoxicitate dependență de complement	20,0	27,0	47,0
36.	LAI-test	45,0	45,0	90,0
37.	Determinarea supresorilor prin metoda de rozetare cu ser fetal de vițel	20,0	27,0	47,0
	Imunitatea umorală			
38.	Determinarea concentrației claselor principale de imunoglobuline (IgA, IgM, IgG) prin metoda imunodifuziei radiale în gel după Mancini pentru o clasa de Ig: -primară -ulterioară	 35,0 2,0	 10,0 6,0	 45,0 8,0
39.	Determinarea concentrației claselor principale de imunoglobuline prin metoda turbidimetrică: - primară - ulterioară	 4,0 2,0	 8,0 4,0	 12,0 6,0
40.	Determinarea concentrației claselor principale de imunoglobuline prin metoda imunoenzimatică: - la analizor automat - la analizor semiautomat	 4,0 4,0	 3,0 8,0	 7,0 12,0
41.	Determinarea concentrației de imunoglobulină E specifică: Prin metoda imunoenzimatică: - la analizor automat - la analizor semiautomat Prin metoda imunocromatografiei	 4,0 4,0 3,5	 5,0 6,0 2,5	 9,0 10,0 6,0
42.	Reacția de fixare a complementului	22,0	22,0	44,0
43.	Determinarea activității anti-O-streptolizinei prin metoda hemolizei pasive: - primară - ulterioară	 24,0 7,0	 33,0 7,0	 58,0 14,0
44.	Determinarea activității anti-O-streptolizinei prin metoda latex-test: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 10,0 3,0	 12,0 4,0
45.	Determinarea factorului reumatoid în serul sanguin reacția de hemaglutinare (Vaaler-Rose): - primară - ulterioară	 30,0 6,0	 30,0 8,0	 60,0 14,0
46.	Determinarea factorului reumatoid prin metoda latex-test: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 10,0 3,0	 12,0 4,0
47.	Determinarea proteinei C-reactive prin reacția de precipitare în capilare	4,0	-	4,0
48.	Determinarea proteinei C-reactive prin metoda latex-test: - primară - ulterioară	 2,0 1,0	 10,0 3,0	 12,0 4,0
49.	Determinarea activității antihialuronidazei în serul sanguin -primară -ulterioară	 25,0 8,0	 6,0 4,5	 31,0 12,5

50.	Reacția de precipitare cu 3,75 % PEG pentru identificarea complexelor imune circulante (CIC): - primară - ulterioară	 11,0 40,0	 11,0 40,0	 22,0 80,0
51.	Determinarea complexelor imune circulante (CIC) prin metoda spectrofotometrică	4,0	6,0	10,0
52.	Dozarea autoanticorpilor antitireoglobulinici, anticardiolipinici, antimielinici, antifosfatidil-serinici, antispermali, anti-ADN, contra fracției microsomale a tireocitelor, contra histonelor, colagenului, antigenelor nucleare extractive, contra seriei de autoantigene de bază (ficat, rinichi, inima, stomac etc.), contra factorului reumatoid, factorului antinuclear, etc:			
	Reacția de hemaglutinare directă: - primară - ulterioară	 10,0 2,0	 10,0 3,0	 20,0 5,0
	Prin metoda imunoenzimatică: - la analizor automat - la analizor semiautomat	 4,0 4,0	 3,0 8,0	 7,0 12,0
	Prin metoda de fluorescență indirectă: -primară -ulterioară	 30,0 -	 20,0 20,0	 50,0 20,0
53.	Determinarea anticorpilor către antigenele virale și bacterene (toxoplasma, citomegalovirus, herpes etc.) și oncomarkerilor prin metoda imunoenzimatică: - la analizor automat - la analizor semiautomat	 4,0 4,0	 3,0 8,0	 7.0 12,0
54.	Determinarea antigenelor virale și bacteriene: - prin metoda imunocromatografică (test expres) - Prin metoda imunoenzimatică la analizor automat la analizor semiautomat	 3,5 4,0 4,0	 2,5 3,0 8,0	 6,0 7.0 12,0
55.	Cercetări imunomorfologice cu anticorpi monoclonali, metoda de diagnosticare - reacția de polimerizare în lanț: - primară - ulterioară	120,0 - -	35,0 180,0 90,0	155,0 180,0 90,0

	VII. Cercetările pentru diagnosticul maladiilor venerice *Testele selective pentru sifilis*	Durata efectuării unei investigații (min) pentru specialistul		
		Cu studii medii	Cu studii superoare	Total
1.	Microreacția (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu plasma sangvină (metoda calitativă): pentru pipetare și agitare manuală: Investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv pentru pipetare manuală și agitare cu aparat Investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv	 4,25 4,75 4,0 4,5	 0,5 0,5 0,5 0,5	 4,75 5,25 4,5 5,0
2.	Microreacția (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu ser nativ inactivat (metoda calitativă): pentru pipetare și agitare manuală: investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv pentru pipetare manuală și agitare cu aparat investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv	 5,75 6,25 5,5 6,0	 0,5 0,5 0,5 0,5	 6,25 6,75 6,0 6,5
3.	Microreacția (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu ser nativ inactivat (metoda cantitativă): - pentru pipetare și agitare manuală - pentru pipetare manuală și agitare cu aparat	 11,25 9,5	 1,75 1,75	 13,0 12,25
	Teste de diagnostic a sifilisului			
4.	Reacția de fixare a complementului (RFC) cu antigenul treponemic și cardiolipinic cu ser nativ inactivat pentru asigurarea centralizată cu eritrocitele sângelui de berbec: Metoda calitativă de termostat, pipetare manuală: - investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv	 8,25 9,0	 7,0 7,5	 15,25 16,50
	Metoda calitativă la rece, pipetare manuală: - investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv	 4,50 4,75	 5,5 6,0	 10,00 10,75
	Metoda calitativă la rece, pipetare manuală mecanizată: - investigație cu rezultat negativ - investigație cu rezultat pozitiv	 2,50 2,75	 5,5 6,0	 8,00 8,75
5.	Reacția de fixare a complementului (RFC) cu antigenul treponemic sau cardiolipinic cu ser nativ inactivat pentru asigurarea centralizată cu eritrocitele sângelui de berbec (metoda cantitativă): - pipetare și agitare manuală - pipetare manuală mecanizată	 11,25 7,0	 11,5 11,5	 22,75 18,5

6.	Microreacţia (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu ser nativ inactivat (metoda calitativă): Pentru pipetare şi agitare manuală: - investigaţie cu rezultat negativ - investigaţie cu rezultat pozitiv Pentru pipetare manuală şi agitare cu aparat: - investigaţie cu rezultat negativ - investigaţie cu rezultat pozitiv	 1,75 2,0 1,5 1,75	 0,5 1,0 0,5 1,0	 2,25 3,0 2,25 2,75
7.	Microreacţia (MR) de precipitare cu antigenul cardiolipinic cu ser nativ inactivat (metoda cantitativă): - Pentru pipetare şi agitare manuală - Pentru pipetare manuală şi agitare cu aparat	 11,25 9,5	 1,75 1,75	 13,0 12,25
8.	Reacţia de floculare Kahn cu antigenul Kahn cu ser nativ inactivat, metoda calitativă	4,5	3,0	7,5
9.	Reacţia de fixare a complementului cu antigen cardiolipinic şi treponemic cu lichidul cefalo-rahidian pentru asigurarea centralizată cu eritrocitele sângelui de berbec: Metoda calitativă de termostat, pipetare manuală: - investigaţie cu rezultat negativ - investigaţie cu rezultat pozitiv Metoda calitativă de termostat, pipetare manuală mecanizată: - investigaţie cu rezultat negativ - investigaţie cu rezultat pozitiv Metoda calitativă la rece: - pipetare manuală - pipetare manuală mecanizată	 15,0 15,75 13,0 13,75 14,25 10,50	 8,75 9,25 8,75 9,25 6,25 6,25	 23,75 25,0 21,75 23,0 20,5 16,75
	Testele specifice la sifilis			
10.	Reacţia de imunofluorescenţă (RIF-abs) cu ser nativ inactivat prin asigurarea centralizată a antigenului: -metoda calitativă -metoda cantitativă	 14,25 42,25	 6,5 30,75	 20,75 73,00
11.	Reacţia de imunofluorescenţă (RIF-200) cu ser nativ inactivat prin asigurarea centralizată a antigenului: -metoda calitativă -metoda cantitativă	 14,25 42,25	 6,5 30,75	 20,75 73,00
12.	Reacţia de imunofluorescenţă (RIF-complet) cu lichid cefalorahidian complet prin asigurarea centralizată a antigenului: -metoda calitativă -metoda cantitativă	 14,25 42,00	 5,5 30,75	 19,75 72,75
13.	Determinarea titrului absorbentului la 100 seruri a sângelui prin efectuarea reacţiilor de imunofluorescenţă (RIF-abs, RIF-200, RIF-c) cu asigurarea centralizată a antigenului	781,50	592,75	1374,25
14.	Determinarea titrului serului luminescent la 100 seruri a sângelui prin efectuarea reacţiilor de imunofluorescenţă (RIF-abs, RIF-200, RIF-c) cu	1024,25	642,50	1666,75

15.	Analiza imunoenzimatică (AIE) cu ser nativ inactivat (metoda calitativă)	12,00	6,50	18,50

Bibliografie:

1. Приказ Минздрава СССР № 386 от 18 мая 1973 г. "Об утверждении расчетных норм времени на лабораторные клинико-диагностические исследования (методические указания).

2. Методические рекомендации Минздрава СССР от 20 декабря 1989 г.№ 10-11/163 «Оценка экономических показателей работы клинико-диагностических лабораторий».

3. Применение расчетных норм времени на проведение клинических лабораторных исследований (методические указания). –М.. часть 1, 1990. –30с.

4. Применение расчетных норм времени на проведение клинических лабораторных исследований (методические указания). –М.. часть II, 1990. –16с.

5. Aprecierea indicilor economici în laboratoarele de diagnostic clinic (recomandatii metodice). Chisinau.- 1993.-19 p.

6. Расчетные нормы времени на проведение клинических лабораторных исследований.// Клин.лабор.диагностика. –1998. -№ 12. –С.33-52.

7. Клиническая лабораторная аналитика. Т.1а. Под ред. В.В.Меньшикова. М.,"Агат-Мед", 2002.- 288 с.

8. Rezultatele măsurărilor cronometrice efectuate în laboratoarele de diagnostic clinic din Spitalul Clinic Republican (Grigore Iarmaliuc, Elena Jucova), Centrul Republican de Diagnosticare Medicală (Liubovi Rațuc și Alexandru Chirița), Institutul de Oncologie (Nadejda Gherman, d.șt. biol.), Spitalul Clinic de Copii "V.Ignatenco" (Svetlana Caragia, d.șt.biol.), Clinica ftiziopulmonologie (S.Ghinda, d.h.ș.m., și Lucia Vangheli), Spitalul Municipal "Arh.Mihail" (Elena Țurcanu), Policlinica Municipala N 1 (Galina Pădure), Laboratorul Biochimie, USMF "Nicolae Testemițanu" (Victor Marin, d.ș.m., conferențiar universitar), Laboratorul Citologic al Institutului Oncologic (Ion Lazarev, d.h.ș.m.).

CAPITOLUL 9

Cerinţele generale faţă de acreditarea laboratoarelor de diagnostic clinic

I. Dispoziţii generale

1. Acreditarea laboratoarelor de diagnostic clinic (LDC) se efectuează cu scopul determinării şi recunoaşterii oficiale a competenţei tehnice în efectuarea cercetărilor, conform cerinţelor standardelor sau altor documente normative (DN). Acreditat poate fi orice laborator, indiferent de apartenenţa de ramură şi forma de proprietate. Laboratoarele se acreditează conform domeniilor de activitate declarată.

2. Lucrul consultativ-metodic referitor la acreditarea LDC se efectuează la şedinţele şi seminarele, organizate de Asociaţia Medicilor de Laborator şi Specialiştilor în Medicina de Laborator din republică, Catedra Diagnostic de Laborator Clinic, Centrul Republican al Controlului Extern de Calitate.

3. Cerinţele acreditării stabilite în prezentul document sunt generale şi de aceea în funcţie de condiţiile specifice ale activităţii laboratorului dat pot fi completate cu alte condiţii la concret.

II. Condiţiile de acreditate a laboratoarelor de diagnostic clinic

Competenţa tehnică.

Cerinţele pentru competenţa tehnică a Laboratoarelor de Diagnostic Clinic includ următoarele elemente:

A. Conducerea şi organizarea;
B. Sistemul dirijării calităţii;
C. Personalul;
D. Echipamente şi materiale de referinţă;
E. Metodele şi procedurile de testare;
F. Local şi mediul ambiant;
G. Manipularea eşantioanelor (probelor), supuse testărilor;
H. Înregistrări.

A. Conducerea şi organizarea:

Laboratorul trebuie să satisfacă următoarelor cerinte:

- să aibă o structură organizatorică cu un aşa sistem de asigurare a calităţii, care ar asigura îndeplinirea satisfăcătoare a funcţiilor tehnice în domeniul acreditat;
- să aibă un conducător cu cunoştinţe medicale suficiente pentru a purta responsabilitatea clinică, ştiinţifică şi tehnică pentru serviciile de laborator acordate. Competenţa conducătorului este asigurată de studiile universitare şi postuniversitare medicale, instruirea permanentă la locul de lucru şi vechimea de muncă practică în laborator;
- să asigure cunoaşterea obligaţiunilor de serviciu de către fiecare colaborator, să aibă un document disponibil şi actualizat cu descrierea şi repartizarea responsabilităţilor;
- să aibă un document disponibil privind regulile securităţii muncii la fiecare loc de muncă, protecţia patri-moniului laboratorului, vieţii şi sănătăţii personalului şi mediului ambiant.

B. Sistemul dirijării calităţii:

Efectuarea testărilor cu calitatea necesară, ce asigură credibilitate laboratorului, necesită organizarea şi aplicarea unui sistem de control al calităţii adecvat tipului, domeniului şi volumului de lucrări efectuate. În acest scop conducerea laboratorului va desemna o persoană responsabilă pentru asigurarea calităţii şi care trebuie să aibă acces direct la conducere la cel mai înalt nivel. Această persoană este responsabilă de elaborarea Manualului Calităţii (Quality Manual). Întocmirea Manualului Calităţii se face în conformitate

cu cerinţele ghidului ISO/CEI 49 şi ISO 25.

Manualul Calităţii trebuie să conţină descrierea sistemului de asigurare a calităţii cercetărilor, care se efectuează în laborator. Dacă unele aspecte ale activităţii LDC sunt oglindite în alte documente, în Manualul Calităţii se fac referiri la aceste documente, care se anexează la "Manual". În Manualul Calităţii se includ operativ toate modificările intervenite pe parcursul activităţii în sistemul de asigurare a calităţii. Cel puţin o dată pe an Manualul Calităţii va fi actualizat de persoana din laborator numită responsabilă.

Laboratorul trebuie să activeze în conformitate strictă cu cerinţele şi procedurile, expuse în Manualul Calităţii.

Manualul Calităţii va cuprinde următoarele compartimente:

a) politica în domeniul calităţii;
b) domeniul de activitate;
c) asigurarea cu documente normative (DN) şi metodice;
d) asigurarea tehnico-materială;
e) procedurile de lucru cu obiectele de testare;
f) controlul calităţii rezultatelor testărilor;
g) reclamaţiile;
h) arhivele;
i) confidenţialitatea lucrului.

Compartimentul "politica în domeniul calităţii" conţine declaraţia conducătorului laboratorului despre scopul funcţionării sistemului de asigurare a calităţii cercetărilor şi căile principale de realizare. Scopul şi obligaţiunile acestei politici trebuie să includă procedeele de trasalibilitate a probelor şi căile de ameliorare a relaţiilor dintre clienţii laboratorului - medicii clinicieni şi executantul serviciilor.

În "Domeniul de activitate" se enumără metodele de testare, utilizate în laborator cu indicaţia obiectelor de testare, unităţilor de măsură folosite, particularităţile lor specifice.

În capitolul "Asigurarea cu documente normative (DN)" se indică informaţia despre regimul de asigurare cu DN şi documente metodice, procedura de înregistrare, aplicare în practică şi actualizare a DN, necesare pentru funcţionarea laboratorului.

În capitolul "Asigurarea materială" se aduc date despre ordinea introducerii în exploatare a utilajului şi echipamentului de laborator, deservirii tehnice şi decontării lor, ordinea verificării, marcării, achiziţionării mostrelor standarde şi materialelor de control, reactivilor, seturilor de reactivi, ordinea pregătirii şi atestării soluţiilor de referinţă, procedura de control a calităţii reactivilor chimici şi de prelungire a termenului lor de valabilitate.

În capitolul " Procedurile de lucru cu obiectele de cercetare" se expune informaţia despre ordinea de colectare, ambalare, depozitare, transportare şi neutralizare a deşeurilor periculoase (eşantioanelor, probelor cercetate, echipamentelor folosite), pentru a preveni afectarea sănătăţii omului şi contaminarea mediului ambiant. Se formulează şi se expun cerinţele pentru completarea registrului şi formularelor de laborator.

În capitolul" Controlul calităţii rezultatelor testărilor" se descrie procedura controlului intern (intralaborator) al sistemului de asigurare a calităţii investigaţiilor de laborator şi a efectuării (în caz de necesitate) a măsurilor de corecţie şi eliminare a erorilor depistate în conformitate cu ordinele în vigoare.

Sistemul de control trebuie să conţină date documentate despre procedurile controlului intern de calitate:

• elaborarea unei forme unice pentru descrierea şi calcularea veridicităţii rezultatelor cantitative ale testărilor cu aprecierea ei atât în serie, cât şi pe serii diferite pe o perioadă lungă de timp, aprecierea dispersiei analitice după analiza comparativă a datelor, obţinute de diferiţi operatori pe aparate diferite, dar pe acelaşi material biologic;

• date despre veridicitatea rezultatelor testărilor, efectuate de diferiţi operatori pe unul şi acelaşi material biologic, dar care n-au expresie cantitativă şi care se exprimă după scara noţiunilor (de exemplu culoarea urinei, anizocitoza şi poikilocitoza celulelor, etc.), sau după scara consecutivă (gradaţii, mult-puţin, etc);

• date despre participarea periodică a laboratorului la măsurile controlului extern (extra-laborator) de apreciere a competenţei profesionale, efectuat la nivel republican şi regional, prezenţa certificatului de la organul, care exercită controlul extern de calitate, procedurile de reacţionare la rezultatele controlului

efectuat de organele de control, măsurile de corecţie efectuate. Sistemul de apreciere a calităţii trebuie să fie revăzut cel puţin o dată pe an.

În capitolul "Reclamaţii" se reflectă ordinea şi procedurile de reacţionare la reclamaţiile despre cali-ta-tea rezultatelor testărilor de laborator. Toate obiecţiile, făcute în timpul inspecţiilor de control sau la facerea bilanţurilor sau totalizărilor, precum şi acţiunile de corecţie trebuie să fie documentate.

În capitolul "Arhivele" se aduc date despre arhiva laboratorului, ordinea şi termenii de păstrare a documentaţiei. Toate materialele despre calibrare şi verificarea capacităţii de lucru a utilajului trebuie să fie păstrate conform documentelor în vigoare.

În capitolul "Confidenţialitatea lucrului" se reglementează măsurile de asigurare a confidenţialităţii informaţiei cerute de client (clinicieni). Pentru asigurarea confidenţialităţii rezultatelor analizelor, precum şi pentru a preîntâmpina contactul cu materialele infecte şi accidentele eventuale, ce pot fi provocate de unele aparate, se va limita accesul persoanelor străine în incinta laboratorului.

În Manualul Calităţii trebuie de inclus instrucţiunile privind tehnica de securitate, securitatea anti-incendiară, igiena muncii, regimul antiepidemic, iar măsurile referitor la înfăptuirea lor trebuiesc documentate.

C. Personalul Laboratorului de Diagnostic Clinic

1. Numărul, componenţa şi calificarea personalului trebuie să fie suficient pentru efectuarea testărilor în domeniul acreditat. Fiecare colaborator trebuie să aibă studii şi instruire corespunzătoare, cunoştinţe tehnice şi experienţa necesară pentru funcţiile atribuite.

2. Pentru fiecare funcţie concretă trebuie să fie elaborată fişa postului, care stabileşte funcţiile, atribuţiile, drepturile şi responsabilităţile colaboratorului, cerinţele privind instruirea, pregătirea profesională, cunoştinţele tehnice şi experienţa de lucru.

3. Personalul LDC trebuie atestat pentru a obţine dreptul de a efectua cercetări. Conducerea LDC asigură instruirea şi reciclarea personalului, iar această activitate trebuie documentată.

D. Echipamente şi materiale de referinţă

1. Laboratorul de diagnostic clinic trebuie să dispună de utilajul necesar pentru efectuarea corectă a cercetărilor şi măsurărilor tuturor parametrilor domeniului de acreditare solicitat şi care să asigure securitatea vieţii, sănătăţii personalului şi, totodată, să asigure păstrarea patrimoniului laboratorului şi protecţia mediului ambiant.

2. Înzestrarea LDC cu utilaj şi mijloace de măsurare, inclusiv cu mostre standard, amestecuri atestate, utilaj auxiliar, care asigură o executare de nădejde a tipurilor şi domeniilor de activitate declarată trebuie să corespundă cerinţelor DN, metodelor de cercetări utilizate.

3. Tot utilajul trebuie păstrat în condiţii, care asigură starea lui tehnică perfectă şi care nu permite uzarea înaintea termenilor stabiliţi de firma producătoare. Pentru utilajul care necesită deservire tehnică periodică trebuie să fie elaborate şi aprobate instrucţiuni detaliate privind modul şi termenii de efectuare a deservirii tehnice.

4. Orice utilaj care provoacă dubii în privinţa rezultatelor obţinute ale testărilor, sau utilajul defectat, trebuie neapărat scos din exploatare şi marcat cu etichete de nevalabilitate. Acest utilaj poate fi folosit în lucru numai după repararea lui şi obţinerea rezultatelor satisfăcătoare, confirmate de încercări.

5. Fiecare unitate a utilajului de încercări şi a mijloacelor de măsurare trebuie să fie înregistrată. Documentul de înregistrare pentru fiecare unitate de utilaj trebuie să cuprindă:

a) denumirea componenţei echipamentului;

b) denumirea firmei producătoare, tipul şi numărul de serie al utilajului;

c) data primirii şi data punerii în funcţiune;

d) starea tehnică la momentului primirii (de exemplu: nou, utilizat, recondiţionat);

e) detalii ale operaţiilor de întreţinere efectuate;

f) date despre defecţiuni tehnice, sau funcţionări defectuoase, modificări sau reparaţii.

Utilajul de încercări şi mijloacele de măsurare în LDC vor fi periodic supuse verificării metrologice, în conformitate cu un program prestabilit din timp.

E. Metode şi proceduri de cercetare

1. LDC trebuie să aibă instrucţiuni documentate corespunzătoare, referitoare la utilizarea şi funcţionarea tuturor echipamentelor aferente, la manipularea şi pregătirea materialului pentru cercetare şi la tehnicile de cercetări standardizate. LDC va primi acreditarea la acele metode de încercări care au fost aprobate, verificate şi la care a fost apreciată siguranţa analitică şi importanţa clinică cu condiţia prezentării documentelor ce confirmă aceste fapte.

2. Prezenţa la fiecare loc de muncă a instrucţiunilor necesare pentru efectuarea investigaţiilor şi procedurilor.

3. Efectuarea analizelor şi cercetărilor conform metodelor investigaţiilor de laborator standardizate, aprobate prin ordinele Ministerului Sănătăţii Republicii Moldova, instrucţiunilor la seturile de reactivi autorizate de MS RM sau metodelor nestandardizate, aprobate şi înregistrate în modul stabilit.

4. Orice metodă de cercetare standardizată sau publicată în reviste de specialitate, înainte de a fi aplicată în laborator, trebuie să treacă validarea. Pentru aceasta este necesar de a efectua calibrarea şi cercetarea sensibilităţii şi specificităţii analitice a metodei respective, de a stabili limitele, interferenţa cu alte substanţe. Este necesar de-asemenea de a aprecia infomativitatea clinică a rezultatelor cercetărilor. Pentru aceasta se stabilesc limitele normei (intervalul informativ), se efectuează comparaţia cu datele obţinute în alte laboratoare şi se apreciază sensibilitatea şi specificitatea nozologică (clinică). Data aplicării în practică a metodei, precum şi data oricăror modificări trebuiesc documentate.

5. Atunci când rezultatele sunt obţinute prin tehnici electronice de procesare a datelor, fiabilitatea şi stabilitatea sistemului trebuie să nu afecteze exactitatea rezultatelor. Sistemul electronic trebuie să fie capabil să depisteze defecţiunile în timpul exercitării programului şi să le semnaleze.

F. Local şi mediu ambiant:

a) încăperile şi condiţiile de lucru în LDC trebuie să corespundă cerinţelor Inspecţiei Sanitare de Stat, Inspecţiei Antiincendiare de Stat, Regulamentului securităţii tehnice;

b) prezenţa în LDC a instrucţiunilor privind tehnica de securitate, securitatea antiincendiară, igiena muncii şi regimul antiepidemic;

c) amenajarea încăperilor speciale pentru păstrarea reactivilor şi altor materiale, care să corespundă normelor şi regulilor sanitare, cerinţelor securităţii şi protecţiei mediului ambiant.

G. Manipularea materialului supus cercetării:

a) laboratorul trebuie să aplice un sistem de identificare a materialului biologic, care urmează a fi cercetat, fie prin documente, fie prin marcare pentru a se asigura că nu poate exista nici o confuzie cu privire la identitatea acestuia şi la rezultatele măsurărilor efectuate;

b) în toate fazele de manipulare sau pregătire pentru testări trebuie luate măsuri de precauţie pentru preve-nirea deteriorării materialului biologic, de exemplu prin denaturare, inactivare sau contaminare, oricare din acestea putând invalida rezultatele. Toate documentele naţionale sau internaţionale, privind manipularea materialului biologic sau probele biologice, care prezintă pericol, trebuie respectate şi oglindite în instrucţiunile respective ale laboratorului;

c) trebuie să existe reguli clar formulate pentru primirea, conservarea şi eliminarea eşantioanelor sau obiectelor.

H. Înregistrări

Laboratorul trebuie să menţină un sistem de înregistrare-păstrare conform tuturor reglementărilor în vigoare care asigură:

- înregistrarea observaţiilor şi rezultatelor măsurărilor originale şi trasabilitatea lor;
- înregistrarea datelor iniţiale, datelor derivate, calculelor, verificărilor metrologice, rapoartelor de încercări finale şi alte documente care conţin informaţii despre testările efectuate;
- identitatea personalului implicat în eşantionare, pregătirea probelor şi testare.

Toate înregistrările şi rapoartele de testare trebuie arhivate şi păstrate în condiţii de securitate şi de confidenţialitate. Termenul păstrării documentelor cu rezultatele testărilor nu se limitează.

III. Ordinea acreditării LDC:

Acreditarea LDC prevede următoarele etape :

1. Pregătirea de către LDC a documentaţiei conform listei de documente necesare pentru acreditare.
2. Studierea şi analiza setului de documente prezentate de către LDC organismului care acordă acreditarea.
3. Examinarea (inspectarea) LDC de către organismul de acreditare.
4. Întocmirea şi eliberarea de către organismul de acreditare a raportului de examinare (inspectare) a LDC.
5. Întocmirea, înregistrarea şi emiterea Certificatului de acreditare.

IV. Drepturile şi obligaţiile LDC acreditat:

1. Laboratorul acreditat are dreptul în limitele, determinate de Certificatul de acreditare:

- a efectua tipurile de cercetări de laborator indicate în Certificatul de acreditare;
- a se referi la faptul de acreditare a LDC în documentaţia emisă şi în materialele de reclamă;
- a încheia contracte pentru efectuarea analizelor concrete cu alte laboratoare şi IMSP;
- a face o contestaţie în termen de 15 zile comisiei de recursuri în caz de discordanţă cu decizia organismului de acreditare.

2. LDC acreditat este dator:

- a păstra cu fidelitate clauzele şi condiţiile pentru asigurarea tainei medicale; să respecte secretul profesional cu privire la toate informaţiile obţinute în timpul realizării atribuţiilor sale.
- a menţine în permanenţă corespunderea sa criteriilor de acreditare;
- a crea condiţiile necesare pentru efectuarea controlului inspectoral asupra activităţii laboratorului;
- a depune o cerere pentru acreditare cu 6 luni înainte de expirarea termenului de ultimă acreditare;
- a nu se folosi de drepturile LDC acreditat după expirarea termenului de valabilitate a Certificatului de acreditare.

3. Supravegherea LDC acreditate poate fi efectuată prin:

- inspecţii periodice a activităţii LDC de către auditori, desemnaţi de organismul care acordă acreditarea;
- examinarea sistematică a informaţiei, privind calitatea efectuării testărilor, date referitor la testările comparative interlaborator, auditul intern al sistemelor calităţii, reclamaţiile clienţilor şi rapoartele testărilor;

Pe baza rezultatelor controlului inspectoral, în cazul depistării neconformităţilor, organismul de acreditare poate lua una din deciziile ce urmează:

- a retrage Certificatul de acreditare pe un termen de până la 6 luni;
- a anula Certificatul de acreditare.

Lista documentelor, necesare în LDC pentru efectuarea acreditării:

1. Fişa tehnică (paşaportul) LDC.
2. Regulamentul LDC, aprobat de conducătorul IMSP.
3. Regimul de lucru al LDC, aprobat de conducătorul IMSP.
4. Lista cu state a LDC.
5. Instrucţiunile de serviciu conform funcţiilor de bază a lucrătorilor, aprobate de conducătorul IMSP. Datele despre pregătirea profesională a colaboratorilor, care asigură executarea tipurilor de activitate declarată, copiile certificatelor lor de calificare şi de instruire la ciclurile de specializare şi reciclare tematică pe problemele actuale ale diagnosticului de laborator.
6. Lista utilajului laboratorului cu indicaţia costului, numerelor de la uzină şi de inventariere.
7. Lista utilajului laboratorului supus verificării metrologice.
8. Atestatele metrologice a utilajului supus verificării.
9. Instrucţiunile privind tehnica de securitate, securitatea antiincendiară şi igiena muncii în LDC.
10. Instrucţiunile privind regimul antiepidemic în LDC.
11. Lista cercetărilor efectuate în laborator cu indicarea metodelor de cercetare folosite.

12. Lista documentației normative folosite în lucru, inclusiv standardizate (unificate), instrucțiunile anexate de firma producătoare la seturile de reactivi.

13. Termenii de efectuare a cercetărilor, îndeplinite în ordine planică și urgentă, aprobată de conducătorul IMSP.

14. Normativele timpului de lucru pentru efectuarea cercetărilor după operațiile tehnologice, confirmate de conducătorul IMSP.

15. Instrucțiunile de exploatare a utilajului, folosit în LDC.

16. Lista cercetărilor de laborator, rezultatele cărora se controlează prin metodele de control intern (intra-laborator) al calității cu indicarea metodelor de control și mărimea variației analitice.

17. Hărțile de control, registrele de evidență a controlului intern (intra-laborator) al calității.

18. Lista materialelor de control, folosite în lucrul LDC.

19. Lista reagenților chimici și completelor (seturilor) de analize, folosite în lucrul LDC.

20. Documentația de evidență în corespundere cu standardele departamentale.

21. Dările de seamă în corespundere cu standardele departamentale.

22. Documentația, privind înregistrarea reclamațiilor și procedurile de examinare, măsurile luate.

Notă: În conformitate cu standardele europene și internaționale ***(EN 45001 5.4.4; ISO9001, capitol 25, p.4.16)*** privind arhivarea informației despre rezultatele investigațiilor de laborator se vor respecta următorii termeni de păstrare a registrelor de evidență:

- Formularele de solicitare a analizelor de laborator – 3 luni;
- Registrele de lucru, observații și calcule, imprimările de la analizatoare – nu mai puțin de 3 luni;
- Registrul de evidență a investigațiilor hematologice, clinice generale, biochimice, microbiologice – 3 ani;
- Registrul de evidență a investigațiilor citologice, izoserologice, imunologice, examenul materialului la eliminarea de bacili tuberculoză – 10 ani;
- Rezultatele controlului intern de calitate - nu mai puțin de 1 an;
- Rezultatele controlului extern de calitate – 5 ani;
- Raportul de dare de seamă anual – 5 ani.

Bibliografie:

1. Ghidul ISO/CEI 25 "Cerințele generale pentru competența tehnică a laboratoarelor de încercări".

2. EN 45002 "Criterii generale pentru evaluarea laboratoarelor de încercări".

3. EN ISO 9000:2000. Quality management systems – Fundamentals and vocabulary (ISO 9000:2000).

4. ISO/IEC Guide 58. Calibration and testing laboratory accreditation systems — General requirements for operation and recognition.

5. ISO 15190. Medical laboratories — Requirements for safety.

6. ISO/IEC 17011 General requirements for bodies providing as-sessment and accreditation of conformity assessment bodies.

7. *Burnett D.* A Practical Guide to Accreditation in Laboratory Medicine. — London, 2002.

8. College of American Pathologists, Standards for Laboratory Accreditation. — Northfield, 1996.

9. Acreditarea laboratoarelor de încercări. RG 01-07-92. Departamentul Standarde, Metrologie și Supraveghere tehnică. Chisinau, 1994.

10. Балаховский И.С. Аккредитация медицинских лабораторий (позиция экспертов Европейской конфедерации лабораторной медицины) // Клин.Лабор.Диагностика. -1997. -№ 2. –С.46-50.

Anexa 2
Aprobat ord. MS şi PS
nr. 517 din 14.12.2006

Partea 2

Nomenclatorul investigaţiilor de laborator folosite în instituţiile medico-sanitare pentru diagnosticul maladiilor şi monitorizarea pacienţilor

CAPITOLUL 1

Metode generale de laborator clinic. Explorările fizico-chimice şi microscopia lichidelor biologice

1.1. Examenul urinei

1.1.1. Proprietăţile fizice ale urinei:

1.1.1.1. Volumul, culoarea, transparenţa

1.1.1.2. Densitatea specifică

1.1.2. Cercetarea chimică a urinei:

1.1.2.1.- pH

1.1.2.2. -proteina1.1.2.3. -proteina Bens-Jones

1.1.2.4. -glucoza

1.1.2.5. -corpii cetonici

1.1.2.6. -sângele1.1.2.7. -bilirubina

1.1.2.8. -corpii urobilinici

1.1.2.9. -acizi biliari

1.1.2.10. -porfobilinogenul

1.1.2.11. -indicanul

1.1.2.12. -nitriţi

1.1.3. Microscopia sendimentului urinar:

1.1.3.1. Cercetarea preparatului nativ:

sedimentul urinar organizat:

- celulele epiteliale (plate, intermediare, renale);
- eritrocite;
- leucocite;
- cilindri urinari:
- hialini;
- ceroşi;
- granuloşi;
- epiteliali;
- eritrocitari (hematici);
- leucocitari;
- grăsoşi;
- bacterieni;
- numărătroarea elementelor patologice urinare (eritrocitelor, leucocitelor, cilindrilor):
- în 24 ore, pe minut, la 1 L;
- sedimentul urinar neorganizat (formaţiunile cristaline),

în urina alcalină:

- fosfaţii amorfi (de amoniac, calciu, magneziu)
- fosfaţii amoniaco- magnezieni
- fosfatul de magneziu, trihidrat
- fosfatul bicalcic
- fosfatul tricalcic
- carbonatul de calciu
- oxalatul de calciu (mono- şi dihidrat)
- biuratul de amoniu

în urina acidă:

- acidul uric
- uraţii (de potasiu, calciu, magneziu, sodiu)
- sulfatul de calciu
- oxalatul de calciu (mono- şi dihidrat)
- acidul hipuric
- cistina
- tirozina
- leucina

indifirent de reacţia urinei:

cristale:

- de colesterol
- de bilirubină
- de acizi graşi
- cristale ale metaboliţilor medicamentelor
- bacterii*
- protozoare*(trihomonade şi al.)
- paraziţi.

1.1.3.2. Examenul sedimentului urinar colorat:

- celule Sternheimer-Malbin (coloraţia supravitală);
- cercetarea citologică a sedimentului în frotiurule fixate**.

1.2. Examenul materiilor fecale

1.2.1. Proprietăţile fizice (aspectul, cantitatea, culoarea, consistenţa)

1.2.2 Examenul chimic:

1.2.2.1.- pH-ul

1.2.2.2.- sângele

1.2.2.3.- bilirubina

1.2.2.4.- stercobilinogenul, stercobilina;

1.2.2.5.- substanţele proteice

1.2.2.6.- amoniacul

1.2.3. Examenul microscopic (cercetările coprologice):

- fibrele musculare;
- ţesutul conguncti;
- ţesut celular vegetativ;
- amidon (intra- şi extracelular);
- lipide neutre;
- acizi graşi;
- săruri ale acizilor graşi (săpunuri);
- mucus;

- epiteliu cilindric;
- eritrocite;
- leucocite;
- cristale:
- oxalat de calciu;
- fosfaţi amoniaco- magnezieni;
- hematoidină;
- cristale Charcot-Leyden;
- microflora*;
-protozoare;
-helminţi (ouă şi larve)*.

1.3. Explorarea secretiei gastrice

1.3.1. Proprietăţile fizice (cantitatea, culoarea, mirosul, prezenţa mucozităţii, surplusurilor patologice)

1.3.2 Explorarea biochimică:

1.3.2.1. Determinarea acidităţii: - HCl liber;
1.3.2.2.- HCl legat;
1.3.2.3.- aciditatea totală:
1.3.2.4.- reziduul acid;
1.3.2.5.- determinarea pepsinei;
1.3.2.6.- determinarea acidului lactic;
1.3.2.7.- glicoproteinele.
1.3.3. pH-metria intragastrală;
1.3.4. Examenul microscopic al sucului gastric:
- amidonul (granule);
- ţesut celular vegetativ;
- fibre musculare;
- lipide neutre;
- levuri*;
- sarcine*;
- bacili ale fermentaţiei lactice*;
- Helicobacter pylori*;
- leucocite;
- epiteliu cilindric;
- eritrocite;
- celule ale neoformaţiunilor maligne.

1.4. Explorarea sucului duodenal

1.4.1. Proprietăţile fizice

1.4.1.1.- culoarea;
1.4.1.2.- consistenţa;
1.4.1.3.- densitatea relativă;
1.4.3.4.- prezenţa mucozităţii, surplusurilor patologice.

1.4.2. Examenul componenţei chimice:

1.4.2.1.- pH-ul
1.4.2.2.- proteina1.4.1.3.- bilirubina
1.4.2.4. - acizi biliari
1.4.2.5. - colesterol
1.4.2.6. - bicarbonaţi
- alfa - amilaza (4.5.3.3.)
- lipaza (4.5.3.17.)
- tripsina (4.5.3.22.).

1.4.3. Examenul microscopic:

- leucocite
- celule epiteliale
- cristale:
- de colesterină
- bilirubinat de calciu
- acizi graşi
- protozoare (lamblii)*
- helminţi**.

1.5. Examenul sputei (flegmei)

1.5.1. Proprietăţile fizice: cantitea, culoarea, aspectul, consistenţa, mirosul, depunerea în straturi:

1.5.2. Examenul componenţei chimice:

1.5.2.1.- proteina
1.5.2.2.- bilirubina.
1.5.2.3.- Examenul microscopic al preparatelor native şi colorate:
- leucocite
- eozinofile
- eritrocite
- celule ale epiteliului cilindric
- macrofagi alveolari
- macrofagi cu hemosiderină
- fibre elastice
- lipofagi
- spirale Curschmann
- Cristale:
- Charcot-Leyden;
- de hematoidină.
- Dopuri Ditrich,
- celule neoplastice **
- Elemente ale echinococului*
- druze de actinomicete*
- Mycobacterium tuberculosis**
- Levuri*

1.6. Examenul lichidului cefalo-rahidian

1.6.1. Proprietăţile fizice:

- aspectul şi culorea;
- transparenţa;
- densitatea relativă;
- formarea vălului de fibrină.

1.6.2. Examenul componenţei chimice:

1.6.2.1. - pH-ul;
1.6.2.2. - proteina totală şi fracţiile proteice;
1.6.2.3. - reacţiile globulinice;
1.6.2.4. - sângele;
1.6.2.5. - alte cercetări ale componenţei chimice (dozarea glucozei,acetonei, clorurilor, ureei, etc.).

1.6.3. Examenul microscopic:

1.6.3.1. - Numărătoarea elementelor figurate:

- numărătoarea eritrocitelor;
- numărătoarea leucocitelor;

1.6.3.2. Diferențierea elementelor celulare (în celula de numărat, în preparatul colorat):
- limfocite;
- plasmocite;
- monocite tisulare;
- macrofagi;
- lipofagi;
- neutrofile;
- eozinofile;
- celule epiteliale (mezoteliale, arahnoendoteliale);
- celule atipice**;
- elemente ale echinococului;
- cristale de:
- hematoidină;
- colesterol;
- bilirubină.

*1.6.4. Cercetările serologice***
(diagnosticul sifilisului, toxoplasmozei și al.)

1.6.5. Flora bacteriană, și virusurile**
(meningococul, pneumococul, bacilul Koch - Micobacterium tuberculosis și al.).

1.7. Examenul lichidelor patologice de puncție (exudatele și transudatele)

1.7.1. Proprietățile fizice:
volumul, caracterul, culoarea, transparența, densitatea relativă.

1.7.2. Examenul componenței chimice:
1.7.2.1.- proteina;
1.7.2.2.- proba Rivalta.

1.7.3. Examenul microscopic:
1.7.3.1. Preparatul nativ:
eritrocite;
- leucocite;
- celule mezoteliale;
—celule neoplastice **
- picături de lipide;
- druze de actinomicete*.

1.7.3.2. Preparatul colorat:
- leucocite (neutrofile, limfocite, eozinofile);
- plasmocite;
- histiocite;
- celule mezoteliale;
- celule neoplastice **
- bacterioscopia*: micobacterii de tuberculoză.

1.7.4. Examenul lichidelor sinoviale
1.7.4.1. *Proprietățile fizice* (Determinarea cantității, chiagului de mucină, aspectul, transparența,densitatea relativă, viscozitatea)
1.7.4.2. Citoza
1.7.4.3. Numărătoarea fagocitelor
1.7.4.4. Numărătoarea formulei leucocitare

1.8. Examenul ejaculatului (lichidului spermatic)

1.8.1. Proprietățile fizice: cantitatea, turbiditatea, mirosul, consistența, viscozitatea.

1.8.2. *Examenul componenței chimice:*
1.8.2.1.- pH-ul;
1.8.2.2.- fructoza;
1.8.2.3.- acidul citric;
1.8.2.4.- proteina totală;
1.8.2.5.- fracțiile proteice;
- alfa-glicozidaza (4.5.3.12.)
- fosfataza acidă ((4.5.3.15.).

1.8.3. Examenul microscopic:
1.8.3.1. Preparatul nativ:
Kinezisgrama:
- spermatozoizi "morți" și "vii";
- numărătoarea spermatozoizilor în 1 ml ejaculat;
- numărătoarea leucocitelor în 1ml ejaculat;
- aglutinarea spermatozoizilor;
- eritrocite;
- leucocite;
- macrofagi;
- celule epiteliale;
- cristale Behterev;
- corpi amiloidici;
- corpi lipoidici.

1.8.3.2. Preparatul colorat:
- celule ale spermatogenezei;
- numărătoarea spermatozoizilor cu diferită morfologie.

1.9. Examenul secrețiilor genitale

1.9.1. Starea funcțională a ovarelor:
- celulele epiteliale ale vaginului:
- stratului superficial;
- stratului intermediar;
- stratului parabazal;
- eritrocite;
- leucocite;
- macrofagi;

*1.9.2. Celule neoplastice**.*

1.9.3. Bacterii, levuri, protozoare în conținutul vaginal.*

1.9.4. Aprecierea gradului de puritate al conținutului vaginal.

Notă: * - vezi "Cercetările microbiologice"
**- vezi "Cercetările citologice"

CAPITOLUL 2

EXPLORĂRI HEMATOLOGICE

2.1. Hemoglobina şi compuşii ei

2.1.1. Hemoglobina (în sângele integru, serul sanguin, plasmă)

2.1.2. Fracţiile hemoglobinei în sânge (A1, A2, F)

2.1.3. Formele anomale ale hemoglobinei:

- hemoglobina H;
- hemoglobina C;
- hemoglobina S;
- hemoglobina D;
- hemoglobina Bart.

2.1.4. Carboxyhemoglobina

2.1.5. Methemoglobina

2.1.6. Oxyhemoglobina

2.1.7. Sulfhemoglobina

2.1.8. Hemoglobina glicozilată.

2.2. Celulele sanguine:

2.2.1. Eritrocitele:

2.2.1.1. Numărătoarea eritrocitelor

2.2.1.3. Caracteristica morfologică a eritrocitelor (în sângele integru, în frotiurile sângelui periferic şi măduva hematogenă):

- diametrul eritrocitelor (normocite, microcite, macrocite, megalocite);
- anomaliile de formă (celule "în ţintă", sferocite, ovalocite, leptocite sau platicite, stomatocite, acantocite, schizocite, eritrocite dantelate, în formă de picătură, în formă de pinteni, eritrocite falciforme-drepanocite);
- anomalii de colorabilitate (normo-, hipo-, hipercromia, anizocromia, eritrocite bazofile, policromatofile);
- incluziuni anomale în eritrocite (corpusculi Heinz, corpusculi Jolly, inele Cabot, eritrocite cu punctaţii bazofile, siderocite).

2.2.1.4. Caracteristicele fiziologice ale eritrocitelor:

- durata vieţii;
- rezistenţa osmotică;
- viteza de sedimentare a hematiilor (VSH);
- hematocritul;

2.2.1.5. Indicii calculaţi:

- concentraţia medie a hemoglobinei într-un eritrocit (MCHC), (vezi p.1.1.);
- conţinutul mediu al hemoglobinei într-un eritrocit (MCH);
- diametrul mediu al eritrocitului;
- volumul mediu al eritrocitului (MCV);
- indicele de anizocitoză (RDW);
- repartizarea grafică a eritrocitelor după diametrul sau volumul lor (curba Price-Jones).

2.2.1.6. Reticulocitele în sânge.

2.2.1.7. Fragmentarea eritrocitelor (în frotiu sau în gradientul densităţii ficol/verografin).

2.2.2. Trombocitele:

2.2.2.1. Numărătoarea trombocitelor

2.2.2.2. Caracteristica morfologică a trombocitelor (în sângele integru, în frotiurile sângelui periferic şi măduva hematogenă):

- diametrul (micro-macrotrombocitele, trombocitele gigantice, fragmentele de trombocite, agregate);
- forma.

2.2.2.3. Proprietăţile funcţionale ale trombocitelor:

- adezivitatea;
- agregaţia (aglutinabilitatea);
- retracţia chiagului de sânge.

2.2.2.4. Volumul mediu al trombocitelor în sânge (MPV).

2.2.2.5. Indicele de anizocitoză a trombocitelor în sânge (PDV)-

2.2.2.6. Volumul total al trombocitelor în sânge (trombocrit, PCT).

2.2.2.7. Repartizarea grafică a trombocitelor după volum.

2.2.3. Leucocitele.

2.2.3.1. Numărătoarea leucocitelor.

2.2.3.2. Caracteristica morfologică a leucocitelor în sângele periferic

(formula leucocitară, numărătoarea diferenţiată automatizată a leucocitelor):

- neutrofile nesegmentate;
- neutrofile segmentate;
- bazofile;
- eozinofile;
- monocite;
- limfocite;
- plasmocite.

2.2.3.3. Particularităţile morfologice ale leucocitelor:

- hiper şi hipo- segmentarea nucleelor neutrofilelor;

- hipogranulaţia;
- mononucleari atipici;
- vacuolizarea citoplasmei şi nucleelor.

2.2.3.4. Corpusculi Barr.

2.3. Măduva hematogenă

2.3.1. Numărătoarea mielocariocitelor.

2.3.2. Numărătoarea megacariocitelor.

2.3.3. Caracteristica morfologică a mielocariocitelor.

2.3.3.1. Elementele celulare ale seriei granulocitare:
- mieloblaştii;
- promielocitele;
- mielocitele (neutrofile, eozinofile, bazofile);
- metamielocitele (neutrofile, eozinofile, bazofile);
- leucocitele nesegmentate (neutrofile, eozinofile, bazofile);
- leucocitele segmentate (neutrofile, eozinofile, bazofile);

2.3.3.2. Elementele celulare ale seriei limfocitare:
- limfoblastul;
- prolimfocitul;
- limfocitul;
- plasmocitul;
- limfocite activate.

2.3.3.3. Elementele celulare ale seriei monocitare:
- monoblastul;
- promonocitul;
- monocitul;
- monocite activate;
- macrofagii.

2.3.3.4. Elementele celulare ale seriei eritrocitare:
- eritroblastul;
- pronormocitul;
- normocitul (bazofil, policromatofil, oxifil);

2.3.3.5. Elementele celulare ale seriei megacariocitare:
- megacarioblastul;
- promegacariocitul;
- megacariocitul (bazofil, policromatofil, oxifil);

2.3.3.6. Semnele morfologice ale dishemopoezei.

2.4. Cercetările citochimice ale celulelor sanguine şi ale măduvii hematogene:
- mieloperoxidaza;
- lipidele:
- PAS - reacţia;
- Esteraza nespecifică.
- Fosfataza acidă (vezi 3.4.8.);
- Fosfataza alcalină (vezi 3.4.9.);

CAPITOLUL 3

EXPLORĂRI CITOCHIMICE

3.1. Examenul microscopic al materialului biologic.

3.1.1. Punctatele formaţiunilor tumorale şi infiltraţiilor de orice localizare (viscerelor, glandelor mamare, tiroide, prostatice, salivare, ganglionilor limfatici, oaselor, ţesuturilor moi, testiculelor şi al.), inclusiv celor efectuale sub controlul tomografiei computerizate, ultrasonografice şi radiografice, rezonanţei magnetice, şi deasemenea punctatele măduvei hematogene, cavităţilor seroase

3.1.2. Materialul obţinut cu ajutorul endoscopiei (laringo-, traheo-, bronho-, esofago-, gastro-, duodeno-, colono-, recto-, cisto-, laparascopie şi al.), inclusiv celui căpătat prin raclare, amprentă, aspiraţie, spălătură, puncţie intraendoscopică.

3.1.3. Materialul exfoliativ (transudate, exudate, secreţie, excreţie, inclusiv urina, sputa, eliminările din mameloane, sucul prostatic, precum şi frotiurile, raclatele, amprentele, spălăturile din ecto- şi endocervix, diverse formaţiuni, exoriaţii, ulceraţii, fistule, leziuni cutanate, leziuni ale mucoaselor şi al.).

3.1.4. Materialul obţinut intraoperator sau în timpul oricărui examen extemporaneu (inclusiv raclatele, amprentele, punctatele).

3.2. Examenul microscopic al materialului biologic în frotiul colorat prin metoda standard.

3.2.1. Coloraţia cu azur-eozină (Romanovski-Giemza, Pappenheim, Leishman).

3.2.2. Coloraţia Papanicolau.

3.2.3. Coloraţia cu hematoxilin-eozină.

3.3. Evaluarea tabloului citologic.

3.3.1. Evaluarea generală: cantitatea de celule (caracter pliricelular, număr moderat, frotiu carenţial, celule solitare) şi dispoziţia celulelor (caracter disparat, formarea de structuri - grupuri, aglomerări, complexe).

3.3.2. Caracteristica celulelor: semnele de diferenţiere (pavimentoasă, glandulară, miogenă, neurogenă, conjunctivă, inclusiv cartilaginoasă, osoasă etc.), dimensiunile, forma.

3.3.3. Caracteristica nucleelor: dimensiunile, forma, conturul membranei nucleare (rugozităţi, intumescenţe), structura cromatinei (aspect granular, grunjos şi al.), colorarea cromatinei (hiper-, normo-, hipocromie), distribuirea în nucleu (centrală, excentrică), semnele de distrofie şi necrobioză (cariorexis, cariopicnoză, carioliză, vacuolizarea, claritatea contururilor).

3.3.4. Caracteristica nucleolelor: numărul, dimensiunile, forma, caracteristica conturului, colorarea, dispoziţia în nucleu, semnele de distrofie şi necrobioză.

3.3.5. Caracteristica citoplasmei: cantitatea (volumul, aria), conturul membranei citoplasmatice, colorarea (culoarea, inegalitatea colorării, prezenţa în ambianţa nucleului a "galo" şi al.), semnele secreţiei, incluziunilor, distrofiei şi necrobiozei (plasmorexis, plasmoliză, vacuolizarea, claritatea contururilor).

3.3.6. Raportul nucleo-citoplasmatic (majorat, normal, micşorat).

3.3.7. Caracteristica activităţii proliferative la microscopul optic; (prezenţa şi numărul de mitoze, inclusiv atipice cu clasificarea ultimelor după tipuri, prezenţa şi numărul de amitoze, inclusiv evaluarea celulelor pluricelulare cu clasificarea ultimelor după tipuri).

3.3.8. Caracteristica structurilor celulare: dimensiunea, forma, prezenţa structurilor cu semne de diferenţiere, păstrarea şi distincţia contururilor celulare, caracteristica ritmicităţii structurilor (bi- şi tridimensionale) şi al.

3.3.9. Caracteristica fonului: prezenţa, caracterul şi cantitatea de substanţă intercelulată, prezenţa infiltratului inflamator, detritului celular şi al.

3.3.10. Aprecierea patomorfozei terapeutice (sensibilitatea sau rezistenţa tumorei la terapia chimică sau actinică).

3.4. Examenul citochimic al frotiului.

3.4.1. Identificarea glucosoaminoglicanilor neutri şi acizi;

3.4.2. Identificarea glicogenului;

3.4.3. Identificarea lipidelor;

3.4.4. Identificarea melaninei;

3.4.5. Identificarea hemosiderinei (fierului);

3.4.6. Identificarea amiloidei;

3.4.7. Activitatea fosfatazei acide;

3.4.8. Activitatea fosfatazei alcaline;

3.4.9. Activitatea peroxidazei.

3.5. Examenul imunocitochimic cu anticorpi monoclonali:

3.5.1. În materialul din uter obţinut la examenul ginecologic cu indicarea la prezenţa chlamidiilor (Chlamydia Trahomatis), papilomavirusurilor (HPV) şi infecţiei herpetice (Herpes simplex or zoster).

3.5.2. În materialul din stomac obţinut la gastroscopie cu indicarea la prezenţa heliobacterului (Heliobacter pylori).

3.5.3. La marcherii de proliferare a celulelor – antigenul nuclear de proliferare celulară (PCHA), Ki-67, bromdeoxiuridina, P53, cyclina D şi al.

3.5.4. Pentru determinarea histogenezei tumorei – citokeratinele, actina, colagenul, desmina, bimentina, proteina S-100, PEA şi al.

3.5.5. La antigenii de diferenţiere (CD) a celulelor limfoide.

3.5.6. Pentru depistarea metastazelor - citokeratinele, nm23, SCC, PEA şi al.

3.5.7. Pentru determinarea receptorilor hormonilor steroizi – estrogenilor şi progesteronului, proteina pS2.

3.5.8. Pentru depistarea marcherilor apoptozei în celulele tumorale - bci-2, bci-6, Bax, CD-95 (Fas) şi al.

3.5.9. Pentru determinarea marcherilor de prognozare – PEA, c-erb, B-2, catepsina D, EGFR, SCC şi al.

3.6. Citometria curgătoare (flow citometria).

3.6.1. Analiza cantitativă a conţinutului de ADN pentru diagnosticul şi pronosticul tumorilor maligne – ploidicitatea, procentul de celule aneuploide, procentul de celule în G0/1 şi G2+M fazele ciclului celular cu ajutorul programelor computerizare.

3.6.2. Analiza cantitativă a recetorilor hormonilor steroizi, marcherilor rezistenţei (P-glicoprotei-nei, glutationului, podominei 123 şi al.) şi apoptozei (rupturilor de ADN, FITC-bci-2, PE-APO2.7 şi al.), marcherilor de pronostic.

3.7. Morfologia computerizată.

3.7.1. Folosirea parametrilor cantitativi - suprafeţei, perimetrului, coeficientul formei celulei şi nucleului, raportului nucleoaro-citoplasmatic, indicilor densitometrici nucleari şi al. - pentru diagnosticul şi evaluarea pronosticului tumorilor maligne.

3.8. Diagnosticul cu folosirea biologiei moleculare în citologie (reacţia de polimerizare în lanţ - PCR).

3.8.1. În materialul din uter obţinut la examenul ginecologic cu indicaţia la prezenţa clamidiilor (Chlamidia trahomatis), virusurilor papilomei (18 tipuri de ADN HPV) şi herpesului (Herpes simplex sau zoster), infecţiilor: micoplasmei, uroplasmei, citomegalovirusului.

3.9. Autoradiografia în citologie.

3.10. Microscopia electronică în frotiuri.

CAPITOLUL 4

EXPLORĂRI BIOCHIMICE

4.1. Proteine şi polipeptide

4.1.1. *Proteinele totale în serul sanguin şi urină*

4.1.2. Fracţiunile proteice (grupele de proteine).

4.1.2.1. Fracţiunile proteice ale plasmei (serului sanguin) - albuminele, globulinele: alfa, beta, gama.

4.1.2.2. Crioglobulinele plasmei (serului) sângelui.

4.1.2.3. Proteinele glicozilate ale plasmei (serului) sângelui:

- fructosamina;
- produsele finale ale glicozilării proteinelor serice.

4.1.2.4. Paraproteinele serului sanguin:

- L-catenele imunoglobulinelor de tipul k (kapa);
- L-catenele imunoglobulinelor de tipul l (lamda).

4.1.2.5. Capacitatea tripsin inhibitorie a serului sanguin.

4.1.2.6. Proba cu timol.

4.1.2.7. Proba cu sublimat corosiv.

4.1.2.8. Glicoproteinele (seromucoizii) în serul sanguin.

4.1.3. Polipeptidele serului sanguin:

- moleculele medii;
- procolagen-1-peptidele;
- telopeptidele încrucişat-legate ale colagenului;
- endotoxinele;
- LAL-testul (cu amibecitele Limulus polyphenus);
- Testul cu paramecii.

4.1.4. Albuminele serului sanguin:

- albumina în urină;
- capacitatea de legare a albuminei în serul sanguin.

4.1.5. beta-2-microglobulina în serul sanguin, urină.

4.1.6. Mioglobina în serul sanguin, urină.

4.1.7. Fibronectina în serul sanguin, urină.

- hemoglobina extracelulară în serul sanguin (plasmă), urină (2.1.1.).

4.1.8. Troponinele I şi T.

4.1.9. Alfa-1-microglobulina în urină.

- proteina Bence-Jones în urină (1.1.2.3.).

4.1.10. Proteinele fazei acute a inflamaţiei în serul sanguin:

4.1.10.1.- proteina-C-reactantă (PCR);

4.1.10.2.- proteina amiloidă A serică (A-proteina);

4.1.10.3.- alfa-1-glicoproteina acidă (orozomucoida);

4.1.10.4.- alfa-1-antitripsina;

4.1.10.5.- haptoglobina;

- ceruloplasmina (4.1.11.1.);

4.1.10.6.- fibrinogenul în plasma sanguină;

4.1.10.7.- prealbumina;

- proteinele sistemului complement (6.3.1.);

4.1.11. Proteinele de transport ale serului sanguin:

4.1.11.1.- ceruloplasmina;

4.1.11.2.- haptoglobina;

4.1.11.3.- hemopexina;

4.1.11.4.- transferina;

4.1.11.5.- feritina;

4.1.11.6.- transcobalamina;

4.1.11.7.- globulina care leagă tiroxina (thyroxine binding globulin - TBG);

4.1.11.8.- albumina care leagă tiroxina (thyroxine binding albumin - TBA);

4.1.11.9.- prealbumina care leagă tiroxina (tyroxine binding prealbumin - TBPA);

4.1.11.10.- transcortina;

4.1.11.11.- globulina care leagă hormonii sexuali (sex binding globulin - SHBG);

4.1.11.12.- albumina care leagă estrogenii (estrogen binding albumin - EBA);

4.1.11.13.- proteina care leagă somatotropina (growth hormone binding protein – GHBP);

4.1.11.14.- proteina care leagă retinolul (retinol binding protein - RBP).

4.1.11.15.- Apolipoproteinele serului sanguin:

4.1.11.15.1.- apolipoproteina A-1 (apo A-1);

4.1.11.15.2.- apolipoproteina B-100 (apo B-100);

4.1.11.15.3.- apolipoproteina C (apo C);

4.1.11.15.4.- apolipoproteina CII (apo C II);

4.1.11.15.5.- apolipoproteina E (apo E) şi izoformele ei.

- Imunoglobulinele (6.1.)
- Antigenii cancer specifici (6.18)
- Proteinele sistemului compliment (6.3.1.)

4.2. Aminoacizii şi derivaţii lor în serul sanguin, plasma sanguină şi urină.

4.2.1. Aminoacizii:

4.2.1.1.- alanina;
4.2.1.2.- beta-alanina;
4.2.1.3.- valina;
4.2.1.4.- leucina;
4.2.1.5.- izoleucina;
4.2.1.6.- prolina;
4.2.1.7.- hidroxiprolina;
4.2.1.8.- fenilalanina;
4.2.1.9.- triptofanul;
4.2.1.10.- acidul a-aminoadipinic;
4.2.1.11.- acidul aminobutiric;
4.2.1.12.- acidul a-aminobutiric;
4.2.1.13.- acidul g-aminobutiric;
4.2.1.14.- glicina;
4.2.1.15.- serina;
4.2.1.16.- treonina;
4.2.1.17.- tirozina;
4.2.1.18.- acidul d-aminolevulinic;
4.2.1.19.- acidul asparagic;
4.2.1.20.- asparagina;
4.2.1.21.- acidul glutaminic;
4.2.1.22.- glutamina;
4.2.1.23.- omitina;
4.2.1.24.- citrulina;
4.2.1.25.- arginina;
4.2.1.26.- lizina;
4.2.1.27.- histidina;
4.2.1.28.- 1-metilhistidina;
4.2.1.29.- 3- metilhistidina;
4.2.1.30.- cistina;
4.2.1.31.- cisteina;
4.2.1.32.- homocisteina;
4.2.1.33.- metionina;
4.2.1.34.- taurina.

Derivații neazotați al aminoacizilor în serul sanguin și urină:

4.2.2.1. acidul fenilpiruvic;
4.2.2.2.- acidul fenilacetic;
4.2.2.3.- acidul p-hidroxifenilpiruvic;
4.2.2.4.- acidul homogentizinic.

4.3. Componenții metabolismului azotat în serul sanguin și urină:

4.3.1.- urea;
4.3.2.- creatina;
4.3.3.- creatinina;
4.3.4.- acidul guanidinacetic;
4.3.5.- acidul guanidinsuccinic;
4.3.6.- indolul;
4.3.7.- acidul uric.

4.4. Pigmenții și metaboliții lor.

4.4.1. Bilirubina:

4.4.1.1. Bilirubina totală în serul sanguin;

4.4.1.2. Bilirubina liberă (neconjugată) în serul sanguin, urină;

4.4.1.3. Bilirubina conjugată în serul sanguin:
- bilirubinmonoglucuronidul;
- bilirubindiglucuronidul;
- acidul d-aminolevulinic (4.2.18.).

4.4.2. Porfirinele în sângele integru, eritrocite, urină, fecalii:

4.4.2.1.- coproporfirinele I și III;
4.4.2.2.- uroporfirinele I și III;
4.4.2.3.- protoporfirina IX;
4.4.2.4.- porfobilinogenul în urină.

4.4.3. Urobilinoizii:

4.4.3.1. corpii urobilinici în urină;
4.4.3.2. urobilinogenul (urobilina) în urină;
4.4.3.3. stercobilinogenul (stercobilina)în materiile fecale.

4.5. Enzimele.

4.5.1. *Enzimele de oxidare și reducere (oxidoreductazele):*

4.5.1.1. Alcooldehidrogenaza (CE 1.1.1.1.) în serul sanguin;

4.5.1.2. Dehidrogenaza aldehidei fosfoglicerice (CE 1.2.1.12.) în serul sanguin;

4.5.1.3. Dehidropteridinreductaza (CE 1.6.99.7.) în serul sanguin;

4.5.1.4. 6-Fosfogluconatdehidrogenaza (CE 1.1.1.43.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.1.5. Catalaza (CE 1.11.1.6.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor, urină;

4.5.1.6. Ceruloplasmina (CE 1.16.3.1.) în serul sanguin.

4.5.1.7. Coproporfirinogen oxidaza (CE 1.3.3.3.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.1.8. Glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (CE 1.1.1.49.) în lizatul eritrocitar;

4.5.1.9. Glutamatdehidrogenaza (CE 1.4.1.3.) în serul sanguin;

4.5.1.10. Glutationreductaza (CE 1.6.4.2.) în lizatul eritrocitar;

4.5.1.11. Glutationperoxidaza (CE 1.11.1.9.) în lizatul eritrocitar;

4.5.1.12. Iditoldehidrogenaza (sorbitoldehidrogenaza – CE 1.1.1.14.) în serul sanguin;

4.5.1.13. Izocitratdehidrogenaza (CE 1.1.1.42.) în serul sanguin, lichidul cefalorahidian;

4.5.1.14. Lactatdehidrogenaza (CE 1.1.1.27.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor, urină, lichidul cefalorahidian.

4.5.1.15. Lactatdehidrogenaza, izoenzimele

(1,2,3,4,5) (CE 1.1.1.27) în serul sanguin.

4.5.1.16. Malatdehidrogenaza (CE 1.1.1.37.) în serul sanguin.

4.5.1.17. 5,10-Metilentetrahidrofolatreductaza (CE 1.5.1.5.) în lizatul eritrocitar

4.5.2. *Transferazele*

4.5.2.1. Adenilatdehidrogenaza (CE 2.7.4.3.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.2. Alaninaminotransferaza (CE 2.6.1.2.) în serul sanguin.

4.5.2.3. Aspartataminotransferaza (CE 2.6.1.1.) în serul sanguin și urină.

4.5.2.4. Aspartataminotransferaza mitocondrială (CE 2.6.1.1.) în serul sanguin.

4.5.2.5. Bifosfogliceromutaza (difosfogliceromutaza) (CE 2.7.5.4.) în serul sanguin.

4.5.2.6. Creatinkinaza (CE 2.7.3.2.) în serul sanguin.

4.5.2.7. Creatinkinaza izoenzimele (CE 2.7.3.2.): CK-1 (BB), CK-2 (MB), CK-3 (MM),
izoformele CK-3 (a, b, c) în serul sanguin.

4.5.2.8. Fosfogliceratkinaza (CE 2.7.2.3.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.9. Fosfoglucomutaza (CE 2.7.5.1.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.10. 6-Fosfofructokinaza (CE 2.7.1.11.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.11. a-D-Galactozo-1-fosfat uridiltransferaza (CE 2.7.7.10.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.12. Glicogen-fosforilaza (CE 2.4.1.1.) în serul sanguin.

4.5.2.13. Glicogen-fosforilaza izoenzimele: GP-BB (CE 2.4.1.1.) în serul sanguin.

4.5.2.14. γ-Glutamiltransferaza (CE 2.3.2.2.) în serul sanguin și urină.

4.5.2.15. Hexokinaza (CE 2.7.1.1.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.16. Lecitin colesterol acetiltransferaza (CE 2.3.1.43.) în serul sanguin.

4.5.2.17. Lizolecitin acetiltransferaza (CE 2.3.1.23) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.18. Monofosfogliceromutaza (fosfogliceromutaza) (CE 2.7.5.3.) în hemolizatul
eritrocitelor.

4.5.2.19. Ornitin-carbomoil transferaza (carbomoilfosfat: L-ornitin-carbomoil transferaza)
(CE 2.1.3.3.) în serul sanguin.

4.5.2.20. Piruvatkinaza (CE 2.7.1.40.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.5.2.21. Transcetolaza (CE 2.2.1.1.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.3. Hidrolazele.

4.5.3.1. Adenozindezaminaza (adenozin-aminohidrolaza) (CE 3.5.4.4.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.5.3.2. AMP-dezaminaza (AMP-aminohidrolaza) (CE 3.5.4.6.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.5.3.3. Alaninaminopeptidaza (CE 3.4.11.2.) în serul sanguin, urină.

4.5.3.4. Alfa-amilaza (CE 3.2.1.1.) în serul sanguin, urină, lichidul ascitic, pleural, conținutul duodenal.

4.5.3.5. Alfa-amilaza (CE 3.2.1.1.) izoenzimele: tipul P, tipul S în serul sanguin, urină, lichidul ascitic, pleural, conținutul duodenal.

4.5.3.6. Macroamilaza (CE 3.2.1.1.) în serul sanguin.

4.5.3.7. Arginaza (L-arginin-ureohidrolaza) (CE 3.5.3.1.) în serul sanguin.

4.5.3.8. b-N-Acetilglucozaminidaza (CE 3.2.1.30) în serul sanguin, urină.

4.5.3.9. Acetilcolinesteraza (colinesteraza eritrocitară) (CE 3.1.1.7.) în hemolizatul eritrocitelor, lichidul amniotic.

4.5.3.10. Chimotripsina (CE 3.4.21.1.) în serul sanguin

4.5.3.11. Colinesteraza, pseudocolinesteraza (acilcolin-acilhidrolaza) (CE 3.1.1.8.) în serul sanguin, urină.

4.5.3.12. Fosfataza acidă (CE 3.1.3.2.) în serul sanguin, lizatul eritrocitelor.

4.5.3.13. Fosfataza acidă prostatică (CE 3.1.3.2.) în serul sanguin, plasma spermală.

4.5.3.14. Fosfataza alcalină (CE 3.1.3.1.) în serul sanguin, urină.

4.5.3.15. Fosfataza alcalină – izoenzimele (CE 3.1.3.1.): hepatică, osoasă, intestinală, placentară, izoenzimele neidentificate (Regan, Nagajo) în serul sanguin, lichidul amniotic.

4.5.3.16. Fosfataza alcalină – macroizoforma.

4.5.3.17. α-Glucozidaza (CE 3.2.1.20.) în serul sanguin, urină, plasma spermală.

4.5.3.18. β-Glucuronidaza (CE 3.2.1.31.) în serul sanguin, urină, lichidul cefalorahidian.

4.5.3.19. Guanindezaminaza (guanaza) (CE 3.5.4.3.) în serul sanguin.

4.5.3.20. Hexozaminidaza totală (β-D-acetilglucozaminidaza, β-N-acetilglucozaminidaza, β-D-acetilhexoaminidaza) (CE 3.2.1.52.) în serul sanguin.

4.5.3.21. Hexozaminidaza A (CE 3.2.1.52.) în serul sanguin, urină.

4.5.3.22. Hexozaminidaza B (CE 3.2.1.52.) în

serul sanguin, lichidul amniotic.

4.5.3.23. Histidaza (CE 4.3.1.3.) în serul sanguin.

4.5.3.24. Leucinaminopeptidaza (CE 3.4.1.1.) în serul sanguin.

4.5.3.25. Lipaza (triacetilglicerol-lipaza) (CE 3.1.1.3.) în serul sanguin, conținutul duodenal.

4.5.3.26. Lipoproteinlipaza (lipaza postheparinică) (CE 3.1.34.3.) în serul sanguin.

4.5.3.27. 5'-Nucleotidaza (5'-ribonucleotid-fosfohidrolaza) (CE 3.1.3.5.) în serul sanguin.

4.5.3.28. Pepsina (3.4.4.1) în conținutul gastric.

4.5.3.29. Pirimidin-5-nucleotidaza (pirimidin-5-nucleotid nucleozidaza) (CE 3.2.2.10.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.3.30. Tripsina imunoreactivă (CE 3.4.4.4.) în serul sanguin, a-tripsina în conținutul duodenal.

4.5.3.31. Urocaninaza (CE 3.5.4.9) în serul sanguin.

4.5.4. Liazele.

4.5.4.1. Aldolaza (fructozobisfosfat aldolaza) (CE 4.1.2.13.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.5.4.2. Aminolevulinat dehidrataza (porfobilinogen sintetaza) (CE 4.2.1.24.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.5.4.3. Argininosuccinatliaza (CE 4.3.2.1.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.5.4.4. Carbohidraza (carbonathidrolaza, carbonatdehidrataza) (CE 4.2.1.1.) în serul sanguin, lizatul eritrocitelor.

4.5.4.5. Enolaza (CE 4.2.1.11.) în serul sanguin, hemolizatul eritrocitelor.

4.1.4.6. Fructozo-1-monofosfat aldolaza (F-I-FA) (CE 4.1.2.13.) în serul sanguin.

4.1.4.7. Porfobilinogen dezaminaza (CE 4.3.1.8.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.5. Izomerazele:

4.5.5.1. Glucozofosfat izomeraza (fosfohexozoizomeraza) (CE 5.3.1.9.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.5.2. Triozofosfat izomeraza) (CE 5.3.1.1.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.6. Ligazele.

4.5.6.1. Cistationin-β-sintetaza (CE 4.2.1.13.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.6.2. Cistationaza (CE 4.2.1.15) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.6.3. L-Glutamilcistein sintetaza (CE 6.3.2.2.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.5.6.4. Glutation sintetaza (CE 6.3.2.3.) în hemolizatul eritrocitelor.

4.6. Glucidele.

4.6.1. Glucoza în sângele integru, serul sanguin, urină, lichidul cefalorahidian.

4.6.2. Galactoza (sau galactozo-1-fosfat) în sângele integru, serul sanguin, urină.

4.6.3. Dizaharidele (lactoza, maltoza, zaharoza, tregaloza) în serul sanguin.

4.6.4. Glicogenul în bioptate, sângele integru.

4.6.5. Levuloza (fructoza) în serul sanguin,urină, spermă.

4.6.6. Pentozele (xiloza, arabinoza, riboza, dezoxiriboza) în urină.

4.6.7. Acizii sialici în serul sanguin.

4.6.8. Fructozo-2,6-bifosfat în limfocite.

4.6.9. Inulina în serul sanguin, urină.

4.6.10. Glicozaminoglicanii în urină.

4.6.11. Metaboliții metabolismului glucidic:

4.6.11.1. Lactatul în sângele integru, plasma sanguină, urină, lichidul cefalorahidian.

4.6.11.2. Piruvatul în sângele integru.

4.6.11.3. Acidul 2,4-difosfoglicerinic eritrocitar în hemolizatul eritrocitelor spălate.

4.6.12. Compușii glucidici:

4.6.12.1. Fructozamina;

- Hemoglobina glicozilată (2.1.8.).

4.7. Lipidele serului (plasmei) sângelui.

4.7.1. Lipidele totale.

4.7.2. Colesterolul:

4.7.2.1. Colesterolul total;

4.7.2.2. Colesterolul liber

4.7.2.3. Esterii colesterolului.

4.7.3. Fosfolipidele:

4.7.3.1. Fosfolipidele individuale.

4.7.4. Acizii grași:

4.7.4.1. Acizii grași liberi;

4.7.4.2. Spectrul acizilor grași liberi.

4.7.5. Corpii cetonici (vezi deasemenea corpii cetonici în urină 1.11.2.5.):

- acetona;
- acidul acetilacetic;
- acidul b-hidroxibutiric.

4.7.6. Trigliceridele totale.

4.7.7. Lipoproteidele (LP).

4.7.7.1. Alfa-LP, prebeta-LP, beta-LP și chilomicronii.

4.7.7.2. LP (a);

4.7.7.3. Beta-lipoproteinele (β-LP);

4.7.7.4. Colesterolul unor clase de LP:

4.7.7.4.1. Colesterolul lipoproteinelor cu densitate înaltă (C-HDL) – alfa-lipoproteinelor;

4.7.7.4.2. Colesterolul lipoproteinelor cu densitate foarte joasă (C-VLDL) – pre-beta lipoproteinelor;

4.7.7.4.3. Colesterolul lipoproteinelor cu densitate joasă (C-LDL) - beta lipoproteinelor;

- Apoproteinele lipoproteinelor serului (plasmei) sângelui (4.1.11.15.);
- Apolipoproteina A-1 (Apo-A1) (4.1.11.15.1.);
- Apolipoproteina B (Apo-B) (4.1.11.15.2.);
- Apolipoproteina E (Apo-E) şi izoformele ei (4.1.11.15.5.).

4.8. Metabolismul gazos al sângelui şi aerului expirat. Echilibrul acido-bazic al sângelui.

4.8.1. Oxigenul sângelui.

4.8.1.1. Presiunea parţială a sângelui:
- sângelui arterial (p02a);
- sângelui capilar (p02c);
- sângelui venos amestecat (p02va);
- sângelui venos (p02v);
- sângelui umbilical (p02u);
- la saturarea hemoglobinei cu 50% oxigen (p50).

4.8.1.2. Gradul de saturaţie a hemoglobinei cu oxigen:
- sângelui arterial (s02a);
- sângelui capilar (s02c);
- sângelui venos amestecat (s02va);
- sângelui venos (s02v);
- sângelui umbilical (s02u);
- conţinutul total de oxigen în sânge (tO2).

4.8.2. Bioxidul de carbon al sângelui.

4.8.2.1. Presiunea parţială a bioxidului de carbon:
- sângelui arterial (pC02a);
- sângelui capilar (pC02c);
- sângelui venos amestecat (pC02va);
- sângelui venos (pC02v);
- sângelui umbilical (pC02u).

4.8.2.2. Bioxidul de carbon total:
- sângelui arterial (tC02a);
- sângelui venos (tC02v).

4.8.3. Oxigenul, bioxidul de carbon, hidrogenul în aerul expirat:
- oxigenul în aerul expirat;
- susfactantul în aerul expirat.

4.8.4. Echilibrul acido-bazic al sângelui:

4.8.4.1. PH-ul:
- pH-ul sângelui arterial (pHa);
- pH-ul sângelui capilar (pHc);
- pH-ul sângelui venos amestecat (pHva);
- pH-ul sângelui venos (pHv);
- pH-ul sângelui umbilical (pHu).

4.8.4.2. Concentraţia ionilor de hidrogen în sângele arterial şi venos (H^+)

4.8.4.3. Bicarbonaţii actuali - AB:
- sângelui arterial (ABa);
- sângelui capilar (ABc);
- sângelui venos amestecat (ABva);
- sângelui venos (ABv);
- sângelui umbilical (ABu).

4.8.4.4. Bicarbonaţii standard - SB:
- sângelui arterial (SBa);
- sângelui capilar (SBc);
- sângelui venos amestecat (SBva);
- sângelui venos (SBv);
- sângelui umbilical (SBu).

4.8.4.5. Excesul de baze - BE:
- sângelui arterial (BEa);
- sângelui capilar (BEc);
- sângelui venos amestecat (BEva);
- sângelui venos (BEv);
- sângelui umbilical (BEu).

4.8.4.6. Bazele tampon - BB:
- sângelui arterial (BBa);
- sângelui capilar (BBc);
- sângelui venos amestecat (BBva);
- sângelui venos (BBv);
- sângelui umbilical (BBu);
- carboxihemoglobina (2.1.4.).

4.9. Hormonii şi substanţele biologic active.

4.9.1. Hormonii hipofizotropi ai hipotalamusului.

4.9.1.1. Liberinele (rilizing - hormonii hipotalamusului):

4.9.1.1.1. Tiroliberina în serul sanguin, plasma sanguină;

4.9.1.1.2. Gonadoliberina (luliberina) în serul sanguin, plasma sanguină;

4.9.1.1.3. Corticoliberina în serul sanguin, plasma sanguină;

4.9.1.1.4. Prolactoliberina în serul sanguin, plasma sanguină;

4.9.1.1.5. Somatoliberina în plasma sanguină;

4.9.1.1.6. Melanocitliberina în plasma sanguină;

4.9.1.2. Hormonii inhibitori ai hipotalamusului (statinele):

4.9.1.2.1. Prolactostatina în plasma sanguină;

4.9.1.2.2. Somatostatina în plasma sanguină;

4.9.1.2.3. Melanocitostatina în plasma sanguină;

4.9.1.3. Alţi hormoni hipofizotropi.

4.9.2. Hormonii hipofizari. Testele funcţionale.

4.9.2.1. Somatotropina (hormonul de creştere, hormonul somatotrop, growth hormone - GH);

4.9.2.1.1. Somatotropina în serul sanguin, plasma sanguină, lichidul amniotic şi urină;

4.9.2.1.2. Somatotropina legată cu proteina în se-

rul sanguin;

4.9.2.1.3. Antigenul somatotropinei în preparatele imunocolorate;

4.9.2.1.4. Somatotropina imunoreactantă în serul sanguin, plasma sanguină – proteina care leagă somatotropina în plasma sanguină (4.1.11.13.).

4.9.2.1.5. Somatotropina în plasma sanguină după administrarea:

- somatoliberinei;
- glucozei;
- tiroliberinei;
- argininei;
- insulinei;
- L-DOPA;
- agoniştilor dopaminei (parlodel, bromcriptina);
- glucagonului şi propanololului;
- încărcarea cu glucoză;
- proba cu clonidină;
- proba cu galanină;
- somatomedina C (factorul de creştere - insuline like growth factor I - IGF-I) în serul sanguin, plasma sanguină (4.9.17.10.1.).

4.9.2.2. Tirotropina (hormonul tireotrop, TTH).

4.9.2.2.1. Tirotropina:

- în sângele capilar integru, screening-ul nou-născuţilor;
- în serul sanguin, plasma sanguină;
- în lichidul amniotic.

4.9.2.2.2. Antigenul tireotropinic în ţesuturi (coloraţia imună).

4.9.2.2.3. β - Subunitatea tirotropinei în serul sanguin, plasma sanguină.

4.9.2.2.4. Imunoglobulinele inhibitoare care leagă tirotropina în serul sanguin sau plasma sanguină.

4.9.2.2.5. Autoanticorpii către tirotropină în serul sanguin sau plasma sanguină

4.9.2.2.6. Anticorpii către receptorii tirotropinei în serul sanguin sau plasma sanguină

4.9.2.2.7. Tirotropina în serul sanguin şi plasmă după:

- administrarea intravenoasă a tiroliberinei;
- administrarea triiodtironinei (testul de inhibiţie cu triiodtironină - testul Verner);
- administrarea domperidonului.

4.9.2.3. Gonadotropinele.

4.9.2.3.1. Folitropina (hormonul foliculostimulant, FSH) în serul sanguin, plasmă, urină.

4.9.2.3.2. Folitropina în serul sanguin sau plasmă după:

- încărcarea perorală cu luliberină;
- administrarea intravenoasă a luliberinei.

4.9.2.3.3. Lutropina (hormonul luteinizant, LH) în serul sanguin, plasma sanguină, urină, lichidul seminal;

4.9.2.3.4. Lutropina în serul sanguin sau plasmă după:

- administrarea intravenoasă a luliberinei;
- administrarea gonadotropinei horionice;
- proba perorală cu clomifenă.

4.9.2.4. Adrenocorticotropina (ACTH).

4.9.2.4.1. ACTH în serul sanguin sau plasmă.

4.9.2.4.2. ACTH în serul sanguin sau plasmă după efectuarea probei cu:

- insulină;
- lizină-vasopresină;
- metapironă.

4.9.2.4.3. 17-Hidroxicorticosteroizii în urină după administrarea 1-24-ACTH (sinactenului).

4.9.2.4.4. Cortizolul în serul sanguin sau plasmă după administrarea:

- corticoliberinei;
- metapironului (metiraponului);
- dozei mici de dexametazonă (proba mică cu dexametazonă);
- dozei mari de dexametazonă (proba mare cu dexametazonă);
- ACTH (testul prolongat);
- ACTH (testul screening rapid).

4.9.2.4.5. Cortizolul în urină după administrarea:

- dozei mici de dexametazonă (proba mică cu dexametazonă);
- dozei mari de dexametazonă (proba mare cu dexametazonă);
- după administrarea ACTH.

4.9.2.5. Prolactina, hormonul lactogen, mamotropina (PRL).

4.9.2.5.1. Prolactina în serul sanguin sau plasmă, lichidul amniotic, cefalorahidian, secretul mucoaselor.

4.9.2.5.2. Testul de stimulare a prolactinei:

- cu tiroliberină;
- cu clorpromazină;
- cu metoclopramidă (cerucal).

4.9.2.5.3. Testul de inhibiţie a prolactinei la administrarea L-DOPA.

4.9.2.5.4. Ritmul de 24 ore al secreţiei prolactinei.

4.9.2.6. Vasopresina.

4.9.2.6.1. Vasopresina (hormonul antidiuretic, ADH) în plasma sanguină şi urină.

4.9.2.6.2. Osmolaritatea plasmei şi urinei în proba cu privaţiunea lichidelor timp de 8 ore.

4.9.2.6.3. Osmolaritatea urinei până şi după administrarea intramusculară a pituitrinei.

4.9.2.6.4. Osmolaritatea urinei în testul cu supraîncărcarea cu apă.

4.9.2.6.5. Volumul urinei în testul cu supraîncărcarea cu apă.

4.9.2.6.6. Densitatea relativă a urinei în testul cu supraîncărcarea cu apă.

4.9.2.7. Oxitocina în serul sanguin, plasma sanguină.

4.9.2.8. Lipotropinele în plasma sanguină.

4.9.2.9. Endorfinele în plasma sanguină.

4.9.2.10. Encefalinele în plasma sanguină.

4.9.3. Hormonii glandei tiroide. Testele (probele) funcționale ale glandei tiroide.

4.9.3.1. Hormonii.

4.9.3.1.1. Tiroxina totală (T_4t):
- în plasma sau serul sanguin, urină;
- în sângele capilar (screening-ul nou-născuților).

4.9.3.1.2. Tiroxina liberă (T_4l) în plasma sau serul sanguin.

4.9.3.1.3. Triiodtironina totală (T_3t) în plasma sau serul sanguin.

4.9.3.1.4. Triiodtironina liberă (T_3l) în plasma sau serul sanguin.

4.9.3.1.5. Triiodtironina reversivă (T_3r) în plasma sau serul sanguin.
- Tireoliberina în plasma sanguină (4.9.1.1.1.);
- Tirotropina în plasma sau serul sanguin, în sângele capilar (screening-ul nou-născuților), în lichidul amniotic (4.9.2.2.1.).
- β-subunitatea tirotropinei (β-TTH) în plasma sau serul sanguin (4.9.3.1.5.).
- antigenul tirotropinei în țesutul glandei tiroide (4.9.2.2.2.).
- Tirotropina - după administrarea intravenoasă a tiroliberinei (proba cu tiroliberină).
- După administrarea triiodtironinei (testul de inhibiție cu triiodtironină – testul Verner) (4.9.2.2.7.).

4.9.3.2. Alte teste de apreciere a funcției glandei tireoide:

4.9.3.2.1. Tireoglobulina (TG) în plasma sau serul sanguin;

4.9.3.2.2. Tireoglobulina (antigenul) în țesutul glandei tiroide:
- globulina care leagă tiroxina în serul sanguin (4.1.11.7.);
- albumina care leagă tiroxina în serul sanguin (4.1.11.8.);
- prealbumina care leagă tiroxina în serul sanguin (4.1.11.9.);
- autoanticorpii către receptorii tirotropinei (Anti-TTH) în serul sanguin (4.9.2.2.6);
- imunoglobulinele inhibitoare care leagă tirotropina în serul sanguin sau plasma sanguină (4.9.2.2.4.).
- autoanticorpii către tirotropină (Anti-TTH) în serul sanguin (4.9.2.2.5);

4.9.3.3.1. Anticorpii tireoperoxidazici în serul sanguin.

4.9.3.3.2. Anticorpii către tireoglobulină în serul sanguin.

4.9.3.3.3. Imunoglobulinele (anticorpii) tireoidstimulante în serul sanguin:
- stimulatorul care acționează îndelungat al glandei tiroide (LATS);
- LATS - protectorul;
- stimulatorul glandei tiroide;
- stimulatorul adenilatciclazei glandei tiroide;
- stimulatorul eliberării T_3;
- stimulatorul formării cAMP de către TTH-receptorul recombinant;
- anticorpii tireoidieni microsomali în serul sanguin.

4.9.3.3.4. Autoanticorpii către tiroxină (anti-T_4) în serul sanguin.

4.9.3.3.5. Autoanticorpii către triiodtironină (anti-T_3) în serul sanguin.

4.9.3.3.6. Anticorpii către al doilea antigen coloidal.

4.9.3.4. Testele (probele funcționale ale glandei tireoide.).

4.9.3.4.1. Triiodtironina în serul sanguin după administrarea tirotropinei (testul de stimulare cu tirotropină).

4.9.3.4.2. Tiroxina în serul sanguin după administrarea:
- tirotropinei (testul de stimulare cu tirotropină);
- triiodtironinei (testul de inhibiție cu triiodtironină – testul Verner);
- tiroxinei.

4.9.3.4.3. Captarea tiroxinei în serul sanguin sau plasma sanguină după administrarea tiroxinei.

4.9.3.4.4. Calcitonina în serul sanguin sau plasma sanguină la efectuarea testelor de stimulare:
- cu calciu;
- cu calciu și pentagastrină;
- cu pentagastrină.

4.9.3.4.5. Captarea ^{131}I de către glanda tireoidă până și după:
- administrarea intramusculară a tirotropinei (testul de stimulare cu tirotropină);
- administrarea tiroxinei (testul de inhibiție cu tiroxină);
- administrarea triiodtironinei (testul de inhibiție cu triiodtironină – testul Verner);

4.9.3.4.6. Raportul radioactivității ^{131}I din salivă și serul sanguin.

4.9.4. Hormonii glandei paratireoide. Probele funcționale.

4.9.4.1. Hormonii:

4.9.4.1.1. Paratirina "integrală" (hormonul paratiroidian) în serul sanguin;

4.9.4.1.2. Paratirina, fragmentul C-terminal, în serul sanguin;

4.9.4.1.3. Paratirina, fragmentul cu masa moleculară medie, în serul sanguin;

4.9.4.1.4. Paratirina, fragmentul N-terminal, în serul sanguin;

4.9.4.1.5. Paratirina, intactă (biologic activă) în serul sanguin;

4.9.4.1.6. Proteina similară paratirinei în serul sanguin sau plasma sanguină;

4.9.4.1.7. Cromogranina A în serul sanguin;

4.9.4.1.8. Antigenul cromograninei A în țesuturi (colorația imună).

4.9.4.1.9. Calcitonina în serul sanguin sau plasma sanguină și țesuturi (vezi deasemenea 4.9.3.4.4.)

4.9.4.2. Probele funcționale.

4.9.4.2.1. Fosforul în urină la administrarea paratirinei.

4.9.4.2.2. Calciul în serul sanguin la administrarea:

- diureticelor tiazidice;
- hidrocortizonului;
- inhibitorilor sintezei prostaglandinelor.

4.9.5. Hormonii stratului cortical al suprarenalelor, metaboliții lor. Probele funcționale.

4.9.5.1. Glucocorticoizii.

4.9.5.1.1. Cortizolul în salivă, serul sanguin, plasma sanguină, urină;

4.9.5.1.2. Cortizolul în serul sanguin și plasma sanguină:

- dimineața;
- seara.

4.9.5.1.3. Cortizolul liber în serul sanguin, plasma sanguină, urină (concentrația, excreția).

4.9.5.1.4. Cortizonul în serul sanguin și plasma sanguină, urină.

4.9.5.1.5. Corticosteronul în serul sanguin și plasma sanguină, urină.

4.9.5.1.6. 11-dezoxicortizol în serul sanguin și plasma sanguină, urină.

4.9.5.1.7. 11-dehidrocorticosteron în serul sanguin

.

4.9.5.1.8. 11-hidroxicorticosteron în serul sanguin.

- Globulina care leagă corticosteroidul, transcortina, în serul sanguin sau plasma sanguină (4.1.11.10.)

4.9.5.1.9. 17- alfa-hidroxipregnenolonul în serul sanguin.

4.9.5.1.10. 17- alfa-hidroxiprogesteronul în plasma sanguină și urină.

4.9.5.1.11. 17- alfa-hidroxicorticosteroizii în plasma sanguină, urină, lichidul amniotic.

4.9.5.1.12. Steroizii 17- cetogeni totali în sânge și urină.

4.9.5.1.13. 17-cetosteroizii totali, neutri, în urină.

4.9.5.1.14. Tetrahidrocortizolul în urină.

4.9.5.1.15. Tetrahidrocortisteronul în urină.

4.9.5.1.16. Tetrahidrodezoxicortizolul în urină.

4.9.5.1.17. Receptorii glucocorticosteroizilor în limfocite și blaști.

4.9.5.2. Mineralocorticoizii.

4.9.5.2.1. Aldosteronul în sânge, în serul sanguin și plasma sanguină, în urina de 24 ore.

4.9.5.2.2. Aldosteronul în serul sanguin sau plasma sanguină:

- în poziția orizontală a pacientului;
- în poziția verticală a pacientului;
- în condițiile cateterizării pentru fiecare nivel a venelor suprarenalelor.

4.9.5.2.3. Receptorii aldosteronului în leucocite.

4.9.5.2.4. 11-dezoxicorticosteronul în serul sanguin.

4.9.5.2.5. 18-hidroxidezoxicorticosteronul în serul sanguin și urină.

4.9.5.2.6. 18-hidroxicortizolul în urină.

4.9.5.2.7. 18-hidroxidezoxicorticosteroizii în serul sanguin.

4.9.5.2.8. 18-hidroxicorticosteronul în urină.

4.9.5.2.9. Tetrahidroaldosteronul în urină.

- Androgenii (4.9.9.).
- Estrogenii (4.9.7.).

4.9.5.3. Testele funcționale.

- Cortizolul (4.9.2.4.4.) în serul sanguin și plasma sanguină după administrarea:
- corticoliberinei (v.pp.);
- metapironului (metiraponului) (v.pp.);
- dozei mici de dexametazonă (proba mică cu dexametazonă) (v.pp.);
- dozei mari de dexametazonă (proba mare cu dexametazonă) (v.pp.);
- insulinei;
- ACTH și a preparatelor lui (testul prolongat cu ACTH; testul rapid cu ACTH);
- Cortizolul total (4.9.2.4.5.) în urină după administrarea:
- dozei mici de dexametazonă (proba mică cu dexametazonă);

- dozei mari de dexametazonă (proba mare cu dexametazonă);

- cortizolul (total şi liber) după administrarea ACTH.

4.9.5.3.1. 11-Dezoxicortizolul în plasmă după administrarea:

- ACTH;

- Metopironului (metiraponului).

4.9.5.3.2. 11-Dezoxicorticosteronul în serul sanguin şi plasmă, urină după administrarea:

- ACTH;

- metopironului (metiraponului).

- dozei mici de dexametazonă (proba mică cu dexametazonă, v.p.).

4.9.5.3.3. Aldosteronul în plasma sanguină după efectuarea probei de mers (efortul ortostatic).

4.9.5.3.4. Dehidroepiandrosteronul total în ser şi plasma sanguină până şi după administrarea ACTH.

4.9.5.3.5. Dehidroepiandrosteron sulfat în ser şi plasma sanguină până şi după administrarea ACTH.

4.9.5.3.6. 17-Hidroxipregnenolonul în serul sanguin până şi după administrarea ACTH.

4.9.6. Hormonii stratului medular al suprarenalelor, predecesorii şi metaboliţii lor.

4.9.6.1. Dioxifenialanina (DOPA) în ser şi plasma sanguină, lichidul cefalorahidian, urină.

4.9.6.2. Dopamina în ser şi plasma sanguină, lichidul cefalorahidian, urină, lacrimă.

4.9.6.3. Dopamin-beta hidroxilaza în serul sanguin.

4.9.6.4. Horadrenalina în plasma sanguină, urină, lacrimă.

4.9.6.5. Normetanefrina (liberă +conjugată) în plasma sanguină, urină.

4.9.6.6. Adrenalina în ser şi plasma sanguină, lichidul amniotic, urină, lacrimă; în plasma sanguină în poziţia pacientului:

- orizontală;

- verticală.

4.9.6.7. Metanefrina (liberă + conjugată) în urină.

4.9.6.8. Metanefrinele (metanefrina +normetanefrina) în urină.

4.9.6.9. Catecolaminele:

- totale în plasma sanguină, urină;

- libere în urină.

4.9.6.10. Acidul vanililmindalic în serul sanguin şi urină.

4.9.6.11. Acidul homovanilinic în serul sanguin, lichidul cefalorahidian, urină.

4.9.6.12. 3-Metoxi-4-hidroxifenilglicolul în plasma sanguină şi urină.

4.9.6.13. Cromogranina în serul sanguin.

4.9.6.14. Dioxifenilglicolul în plasma sanguină.

4.9.6.15. Monooxidaza A şi B în ţesuturi.

4.9.6.16. Testele funcţionale.

4.9.6.16.1. Catecolaminele totale şi fracţionate (adrenalina, noradrenalina) în plasma sanguină şi urină la administrarea clonidinei (testul de inhibiţie cu clonidină).

4.9.6.16.2. Acidul vanililmindalic în urină la administrarea clonidinei (proba cu clonidină).

4.9.6.16.3. Catecolaminele fracţionate (adrenalina, noradrenalina, dopamina), dioxifenilalanina, dihidroxifenilalanina, acidul 3,4-dihidroxifenilacetic în plasma sanguină şi urină la administrarea clofelinei şi glucagonului (proba cu clofelină şi glucagon).

4.9.6.16.4. Catecolaminele fracţionate (adrenalina, noradrenalina, dopamina) în plasma sanguină şi urină după efectuarea probei cu:

- histamină,

- tiramină;

- glucagon.

4.9.7. Hormonii glandelor sexuale femenine. Predecesorii şi metaboliţii lor.

4.9.7.1. Estrogenii.

4.9.7.1.1. Estradiolul total în salivă, serul şi plasma sanguină, ţesuturi, urină.

4.9.7.1.2. Estradiolul biologic accesibil în serul sanguin.

4.9.7.1.3. Estradiolul liber în plasmă şi ţesuturi.

4.9.7.1.4. Estradiolul în serul sanguin, nelegat cu proteinele.

4.9.7.1.5. Estradiolul neconjugat în urină.

4.9.7.1.6. Estronul în serul sanguin şi urină.

4.9.7.1.7. Estron sulfatul în serul sanguin.

4.9.7.1.8. Estronul biologic accesibil în serul sanguin.

4.9.7.1.9. Estronul neconjugat (liber) în serul sanguin şi urină.

4.9.7.1.10. Estriolul total în lichidul amniotic, serul sanguin şi urină.

4.9.7.1.11. Estriolul conjugat în serul sanguin.

4.9.7.1.12. Estriolul neconjugat (liber) în serul sanguin, lichidul amniotic (v.p.).

4.9.7.1.13. Estrogenii totali în urină.

4.9.7.1.14. Progesteronul în salivă, serul şi plasma sanguină, urină, lichidul amniotic.

4.9.7.1.15. 17-alfa-hidroxiprogesteronul în plasma sanguină şi urină.

4.9.7.1.16. Progesteronul liber în urină.

- androgenii (4.9.9.).

4.9.7.2. Hormonii glandelor sexuale femenine cu structura peptidică.

4.9.7.2.1. Relaxina în plasma sanguină.

4.9.7.2.2. Inhibina în plasma sanguină.

4.9.7.2.3. Activina în plasma sanguină.

4.9.7.3. Cercetări suplimentare pentru aprecierea funcției glandelor sexuale femenine.

4.9.7.3.1. Anticorpii antispermali în serul sanguin.

- folitropina în plasma sanguină (4.9.2.3.1.).
- lutropina în plasma sanguină (4.9.2.3.3.).

4.9.7.3.2. Ritmurile de 24 ore și ciclice de secreție a lutropinei.

- Prolactina în plasma sanguină (4.9.2.5.).
- Transcortina în serul sanguin (4.1.11.10.).
- Globulina care leagă hormonii sexuali în serul sanguin, lichidul amniotic (4.1.11.11.).
- Proteina care leagă estrogenii (albumina) în serul sanguin sau plasma sanguină (4.1.11.12.).

4.9.7.3.3. Receptorul (antigenul) estrogenului/progestinei în țesuturi.

4.9.7.3.3.1. Receptorii estrogenelor (estradiolului) în țesuturi.

4.9.7.3.3.2. Receptorii progesteronului (progestinelor) în țesuturi.

4.9.7.4. Testele funcționale.

4.9.7.4.1. Estradiolul în serul sanguin sau plasma sanguină după încărcarea cu dexametazonă, luliberină, gonadotropine (lutropina, folitropina).

4.9.7.4.2. Estrogenii în serul sanguin sau plasma sanguină după încărcarea cu dexametazonă, luliberină, gonadotropine (lutropina, folitropina).

4.9.8. Hormonii, predecesorii și metaboliții lor în placentă și complexul fetoplacentar.

4.9.8.1. Gonadotropina horionică în urină, serul sanguin și plasma sanguină.

4.9.8.2. Antigenul gonadotropinei horionice în țesuturi.

4.9.8.3. Alfa-subunitatea gonadotropinei horionice în serul sanguin.

4.9.8.4. Beta-subunitatea gonadotropinei horionice în serul sanguin, urină, lichidul amniotic.

4.9.8.5. Gonadotropina horionică intactă în serul sanguin, urină.

4.9.8.6. Lactogenul placentar (somatomamotropina) în serul sanguin, lichidul amniotic.

- Estriolul liber în serul sanguin și plasma sanguină, urină, lichidul amniotic (4.9.7.1.10.).

4.9.8.7. 15-Hidroxiestriolul în ser sau plasma sanguină.

4.9.8.8. 16-Hidroxidehidroepiandrosteronul în plasma sanguină.

4.9.8.9. 16-Hidroxidehidroepiandrosteron sulfatul în plasma sanguină.

- 17-Hidroxipregnenolonul în serul sanguin.

4.9.8.10. 16-Hidroxipregnenolonul în serul sanguin.

- 17- Hidroxiprogesteronul în plasmă și serul sanguin, urină, lichidul amniotic (4.9.7.1.10.).

4.9.8.11. 17-Hidroxicorticosteroizii în lichidul amniotic.

- Progesteronul în salivă, serul sanguin și plasma sanguină, urină (4.9.7.1.14.).

4.9.8.12. 16-Hidroxiprogesteronul în serul sanguin.

4.9.8.13. Cortizolul în lichidul amniotic.

4.9.8.14. Cortizolul liber în lichidul amniotic.

4.9.8.15. Alfa-fetoproteina în serul sanguin și lichidul amniotic.

4.9.9. Hormonii glandelor sexuale masculine. Predecesorii și metaboliții lor.

4.9.9.1. Androgenii.

4.9.9.1.1. Androstendionul în sângele capilar, serul și plasma sanguină, lichidul seminal.

4.9.9.1.2. Androstendiolul în serul și plasma sanguină, urină.

4.9.9.1.3. Androsteronul în serul sanguin și urină.

4.9.9.1.4. Epiandrosteronul în serul sanguin.

4.9.9.1.5. Epitestosteronul în serul sanguin și urină.

4.9.9.1.6. Testosteronul în serul și plasma sanguină, urină, salivă, lichidul seminal:

- total;
- liber în serul sanguin;
- biologic accesibil (liber + slab legat) în serul sanguin sau plasma sanguină;
- neconjugat în serul sanguin.

4.9.9.1.7. Dihidrotestosteronul în serul sanguin:

- total;
- liber.

4.9.9.1.8. 3-alfa-Androstendiol glucuronidul în serul sanguin.

4.9.9.1.9. 3-beta-Androstendiolul în serul sanguin.

4.9.9.1.10. 11-cetoandrosteronul în serul sanguin și urină.

4.9.9.1.11. 11-cetoetiocolanolonul în serul sanguin și urină.

4.9.9.1.12. Steroizii 17-cetogeni în sânge și urină.

4.9.9.1.13. 17-cetosteroizii în urină.

4.9.9.1.14. Etiocolanolonul în serul sanguin, plasmă și urină.

4.9.9.1.15. Dehidroepiandrosteronul în serul sanguin, plasmă și urină:

- total;
- neconjugat.

4.9.9.1.16. 17-alfa-Hidroxiprogesteronul în serul

sanguin, plasmă şi urină.

4.9.9.1.17. 11-hidroxiandrostendionul în serul sanguin şi urină.

4.9.9.1.18. 11-hidroxietocolanolonul în serul sanguin şi urină.

- Estrogenii (4.9.7.).

4.9.9.2. Estrogenii lichidului seminal:

- estradiolul;
- estronul.

4.9.9.3. Cercetările suplimentare pentru aprecierea funcţiei glandelor sexuale masculine:

- folitropina în plasma sanguină (4.9.2.3.1.);
- lutropina în plasma sanguină (4.9.2.3.3.);
- prolactina în plasma sanguină (4.9.2.5.);
- transcortina în serul sanguin şi plasmă (4.1.11.10.);
- globulina care leagă hormonii sexuali în serul sanguin (4.1.11.11.).
- anticorpii antispermali (4.9.7.3.1.).

4.9.9.4. Testele funcţionale.

4.9.9.4.1. Folitropina în plasma sanguină până şi după administrarea:

- gonadoliberinei;
- clomifenului;
- lutropina în plasma sanguină până şi după administrare (4.9.2.3.4.);
- gonadoliberinei;
- clomifenului.

4.9.9.4.2. Prolactina în plasma sanguină până şi după administrarea:

- gonadoliberinei;
- clomifenului.

4.9.9.4.3. Androstendionul în sângele capilar, serul sanguin şi plasma sanguină, urină după administrarea dexametazonului (proba de inhibiţie cu dexametazon).

4.9.9.4.4. Testosteronul în salivă, ser şi plasma sanguină, urină după administrarea dexametazonului (proba de inhibiţie cu dexametazon).

4.9.10. Sistemul RENINĂ-ANGIOTENSINĂ-ALDOSTERON.

4.9.10.1. Prorenina în plasmă:

- concentraţia;
- activitatea.

4.9.10.2. Renina în plasmă:

- în poziţia pacientului orizontală;
- în poziţia pacientului verticală.

4.9.10.3. Renina în plasmă:

- la efortul ortostatic (proba de mers);
- după administrarea captoprilului;
- după administrarea furosemidei.

4.9.10.4. Angiotensinogenul în plasmă.

4.9.10.5. Enzima de conversie a angiotensinei în plasmă.

4.9.10.6. Angiotensina I în plasmă.

4.9.10.7. Angiotensina II în plasmă.

4.9.10.8. Clearence-ul renal al reninei.

- Aldosteronul (4.9.5.2.1.).

4.9.10.9. Cercetările suplimentare.

- sodiul în plasmă (4.10.1.3.);
- potasiul în plasmă (4.10.1.2.).

4.9.11. Hormonii rinichilor.

4.9.11.1. Eritropoetina în serul sanguin.

4.9.12. Hormonii şi testele (probele) funcţionale ale pancreasului.

4.9.12.1. Insulina liberă în plasma sanguină.

4.9.12.2. Insulina imunoreactantă în plasma sanguină.

4.9.12.3. Glucagonul în plasma sanguină, lichidul amniotic.

4.9.12.4. Secretina în plasma sanguină.

4.9.12.5. C-peptidul în plasma sanguină.

4.9.12.6. Gastrina în plasma sanguină.

4.9.12.7. Colecistokinina-pancreozimina în plasma sanguină.

4.9.12.8. Polipeptida pancreatică în plasma sanguină.

4.9.12.9. Anticorpii antiinsulinici în ser şi plasma sanguină.

4.9.12.10. Bombezina în plasma sanguină.

- Somatostatina în plasma sanguină (4.9.1.2.2.).

4.9.12.11. Polipeptidele glucagon-like (glucagon-similare) în plasma sanguină.

4.9.12.12. Polipeptidele vasoactive intestinale în plasma sanguină.

Testele (probele) funcţionale ale pancreasului.

- Glucoza în sânge, serul sanguin, plasma sanguină (4.6.1.).

4.9.12.13. Glucoza la efectuarea testului peroral de toleranţă la glucoză.

4.9.12.14. Glucoza în sânge după administrarea insulinei (testul de toleranţă la insulină).

4.9.12.15. Insulina în plasma sanguină la efectuarea testului peroral de toleranţă la glucoză.

4.9.12.16. Insulina şi glucoza în serul sanguin, testul de inhibiţie pe parcursul a 72 ore de flămânzire.

4.9.12.17. Insulina în serul sau plasma sanguină până şi după administrarea intravenoasă a tolbutamidei.

4.9.12.18. Gastrina după administrarea intravenoasă a secretinei.

4.9.12.19. Glucagonul:

- în plasma sanguină;
- după administrarea intravenoasă a argininei;
- după administrarea perorală a glucozei (glucagon, testul de inhibiţie).

4.9.12.20. C-Peptida în plasmă sau serul sanguin:
- după administrarea C-peptidei;
- după administrarea intravenoasă a glucagonului;
- după 12-ore de flămânzire;
- Enzimele [alfa-amilaza, (4.5.3.4.); p-amilaza, (4.5.3.5.) lipaza, (4.5.3.25.); tripsina , (4.5.3.30.) în conţinutul duodenal].

4.9.12.21. R-protein-cobalamina precum şi ^{57}Co- şi ^{58}Co-cobalamina în urina de 24 ore (testul pancreatic Shilling).
- Hemoglobina glicozilată (2.1.8.)
- Fructozamina (4.6.12.1.).

4.9.13. Hormonii tractului digestiv. Testele funcţionale.

- Gastrina în serul sanguin (4.9.12.6.)

4.9.13.1. Antigenul gastrinei în ţesuturi.

4.9.13.2. Minigastrina G_{14} (gastrina G_{14}) în serul sanguin.

4.9.13.3. Minigastrina G_{17} (gastrina G_{17}) în serul sanguin,.

4.9.13.4. Macrogastrina G_{34} (gastrina G_{34},).

4.9.13.5. Substanţa P (polipeptid cu 11 resturi aminoacidice) în plasma sanguină.
- Bombesina în plasma sanguină (4.9.12.10.).

4.9.13.6. Antigenul bombesinei în ţesuturi.
- Peptida vasoactivă intestinală - VIP (vasoactive intestinal polypeptide) în ser sau plasma sanguină (4.9.12.12.).
- Secretina în plasma sanguină (4.9.12.4.).
- Polipeptida pancreatică (PP) (4.9.12.8.).

4.9.13.7. Neurotensina în serul sanguin.

4.9.13.8. Motilina în serul sau plasma sanguină.
- colecistokinina (pancreozimina) în serul (plasma sanguină) (4.9.12.7.);
- somatostatina în plasma sanguină (4.9.1.2.2.);
- peptidele glucagon-like – glucagon similare (4.9.12.11.).

4.9.13.9. Polipeptida inhibitoare a funcţiei gastrice - GIP (gastric inhibitory polypeptide).
- Serotonina în serul şi plasma sanguină, în trombocite (4.9.14.1.);
- Antigenul serotoninei în ţesuturi (4.9.14.2.);
- Encefalinele (4.9.2.10.);
- Endorfinele (4.9.2.9.).

4.9.13.10. Peptida insulinotropă, glucozodependentă.
- Dopamina (4.9.2.9.).

4.9.13.11. Testele funcţionale.
- Gastrina în serul sanguin, testul de stimulare:
- după administrarea secretinei;
- după administrarea calciului;
- după mese.

4.9.14 Serotonina, predecesorii şi metaboliţii ei:

4.9.14.1. Serotonina în serul şi plasma sanguină, sângele integral, trombocite;

4.9.14.2. Antigenul serotoninei în ţesuturi;

4.9.14.3. Acidul 5-hidroxiindolil acetic în serul sanguin, urină.
- triptofanul în serul, plasma sanguină, urină, lichidul cefalorahidian şi amniotic (4.2.1.9.).

4.9.14.4. 5-Hidroxitriptofanul în sângele integral.

4.9.15. Histamina, predecesorii şi metaboliţii ei.

4.9.15.1. Histamina în serul şi plasma sanguină, urină, granulocite.

4.9.15.2. Acidul imidazolacetic în urină.
- Histidina în sânge, serul şi plasma sanguină, urină, lichidul amniotic (4.2.1.27.).

4.9.15.3. Anticorpii către histamină în serul şi plasma sanguină.

4.9.16. Prostaglandinele.

4.9.16.1. Prostaglandinele totale în plasma sanguină.

4.9.16.2. Prostaglandina A în urină.

4.9.16.3. Prostaglandina D_2 în serul şi plasma sanguină, urină.

4.9.16.4. Prostaglandina E în plasma sanguină,

4.9.16.5. Prostaglandina E_1 în serul şi plasma sanguină.

4.9.16.6. Prostaglandina E_2 în serul sanguin şi urină.

4.9.16.7. Prostaglandina F în plasma sanguină.

4.9.16.8. Prostaglandina F_2 în serul sanguin.

4.9.16.9. Prostaglandina F_2-alfa în serul şi plasma sanguină.

4.9.16.10. Prostaglandina F_2A în urină.

4.9.17. Alte substanţe biologic active.

4.9.17.1. Peptida YY.

4.9.17.2. Peptida-histidina-metionina-27.

4.9.17.3. Neuropeptida Y.

4.9.17.4. Catacalcina.

4.9.17.5. Galanina.

4.9.17.6. Peptida alfa-natriuuretică atriculară.

4.9.17.7. Peptida-32 natriuuretică cerebrală.

4.9.17.8. Peptida natriuuretică renală.

4.9.17.9. Peptida delta- provocatoare de somn.

4.9.17.10. Somatomedinele în serul sanguin.

4.9.17.10.1. Somatomedina C (factorul de creştere-I insulin-like) în serul şi plasma sanguină, lichidul amniotic.

4.9.17.10.2. Somatomedina A (factorul de creştere-II insulin-like) în serul sanguin.

4.9.17.11. Calicreina.

4.9.17.12. Bradikinina.

4.9.17.13. Acetilcolina în sânge.

- Endorfinele (4.9.2.9.).
- Encefalinele (4.9.2.10.).

4.10. SUBSTANŢELE ANORGANICE.

4.10.1 Macroelementele

4.10.1.1. Azotul.

4.10.1.1.1. - azotul total (suma tuturor substanţelor azotate) în sângele integral, serul sanguin, urină;

4.10.1.1.2. - azotul amoniacului în sângele integral, serul sanguin, urină;

4.10.1.1.3. - azotul altor substanţe în sânge, urină;

4.10.1.1.4. - nitraţii în urină;

4.10.1.1.5. - nitriţii în urină.

4.10.1.2. Potasiul (caliul).

4.10.1.2.1. - Potasiul total în sângele integral, serul (plasma sanguină), eritrocite, urină;

4.10.1.2.2. - Activitatea ionilor de potasiu în serul (plasma sanguină), urină.

4.10.1.3. Sodiul (natriul).

4.10.1.3.1. - sodiul total în sângele integral, serul (plasma sanguină), eritrocite, urină;

4.10.1.3.2. - activitatea ionilor de sodiu în serul (plasma sanguină), urină.

4.10.1.4. Litiul în serul (plasma sanguină).

4.10.1.5. Fosforul.

4.10.1.5.1. – fosforul total în sânge şi urină.

4.10.1.5.2. - fosforul anorganic în sângele integral, serul (plasma sanguină), eritrocite, urină;

4.10.1.5.3. - fosforul organic (compuşilor organici cu masa moleculară mică) în sângele integral, serul (plasma sanguină), eritrocite.

4.10.1.6. Calciul.

4.10.1.6.1. - calciul total în serul (plasma sanguină), urină;

4.10.1.6.2. - activitatea ionilor de calciu în serul (plasma sanguină);

4.10.1.6.3. - calciul ionizat în serul (plasma sanguină);.

4.10.1.6.4. - calciul legat cu proteinele în serul (plasma sanguină);

4.10.1.6.5. - calciul din complexele organice în serul (plasma sanguină);

4.10.1.6.6. - calciul ultrafiltrat în serul (plasma sanguină);

4.10.1.7. Magneziul.

4.10.1.7.1. - magneziul total în serul (plasma sanguină), urină;

4.10.1.7.2. - activitatea ionilor de magneziu în serul (plasma sanguină);

4.10.1.7.3. - magneziul ionizat în serul (plasma sanguină);

4.10.1.7.4. - magneziul legat în serul (plasma sanguină);

4.10.1.8. Fierul

4.10.1.8.1. - fierul hemoglobinic (combinat cu hemoglobina sângelui integral);

4.10.1.8.2. - fierul în serul sanguin (anorganic sau nehemoglobinic);

4.10.1.8.3. - capacitatea serului sanguin de legare a fierului (vezi transferina).

4.10.1.9. Clorul.

4.10.1.9.1. – clorul total în sângele integral, serul (plasma sanguină), urină;

4.10.1.9.2. - activitatea ionilor de clor în plasma sanguină.

4.10.1.10. Sulful.

4.10.1.10.1. - sulful total în serul (plasma sanguină), urină;

4.10.1.10.2. – sulful anorganic (sulfaţii) în serul (plasma sanguină), urină.

4.10.1.11. Apa.

4.10.1.11.1. – conţinutul de apă totală în plasma sanguină;

4.10.1.11.2. - apa liberă în plasma sanguină.

4.10.2. Microelementele.

4.10.2.1. Cuprul în plasma (serul sanguin).

4.10.2.2. Iodul.

- iodul organic în serul sanguin;
- iodul anorganic în serul sanguin, urină;
- iodul legat cu proteinele în serul sanguin.

4.10.2.3. Fluorul în serul sanguin, urină.

4.10.2.4. Cobaltul în plasma (serul sanguin).

4.10.2.5. Zincul în serul sanguin.

4.10.2.6. Seleniul în serul sanguin.

4.10.2.7. Nichelul în serul sanguin.

4.10.2.8. Cromul în serul sanguin.

4.10.2.9. Vanadiul în serul sanguin.

4.10.2.10. Germaniul în serul sanguin.

4.11 TESTELE FUNCŢIONALE

4.11.1 Testele funcţionale ale ficatului.

Testele de distrugere (lezare) a hepatocitelor (sindromul de citoliză):

- alaninaminotransferaza (ALAT), CE 2.6.1.2. (4.5.2.2.);
- aspartataminotransferaza (ASAT), CE 2.6.1.1.

(4.5.2.3.);
- g-glutamiltranspeptidaza (g-GPT), CE 2.3.2.2. (4.5.2.8.);
- glutamatdehidrogenaza (GLDH), CE 1.4.1.2. (3.2.1.4.);
- lactatdehidrogenaza (LDH) şi izoenzimele ei, CE 1.1.1.27. (3.2.1.13.);
- sorbitoldehidrogenaza (SDH), CE 1.1.1.14. (4.5.1.8.);
- fructozo-1-monofosfat aldolaza (F-I-FA), CE 4.1.2.13. (4.5.4.6.);
- ornitin-carbomoil transferaza (OCT), CE 2.1.3.3. (4.5.2.14) în serul sanguin.
- arginaza, CE 3.5.3.1. (4.5.3.7) în serul sanguin.
- histidaza, CE 3.5.... (4.5.3.23) în serul sanguin.
- urocaninaza, CE 3.5..... (4.5.3.31) în serul sanguin.
- fierul (4.10.1.8.).
Ciancobalamina (Vitamina B_{12}).
Testele insuficienţei hepato-celulare:
Diminuarea funcţiei sintetice a ficatului:
- proteina totală (4.1.1.);
- albuminele serice (4.1.4.1.);
- pseudocolinesteraza (4.5.3.11.);
- fibronectina (4.1.4.4.);
- alfa-1-antitripsina (4.1.5.4.);
- ceruloplasmina (4.5.1.6.).
Indicii sistemului de coagulare a sângelui:
- fibrinogenul (4.1.5.7.);
- timpul protrombinic (5.2.1.7.);
- factorul V (proaccelerina) (5.2.2.2.);
- factorul VII (proconvertina) (5.2.2.2.);
- factorii antihemofilici (VIII, IX, X) (5.2.2.3.);
- timpul de tromboplastină parţial activat (5.2.1.2.);
- antitromboplastinele (5.3.1.7.):
- alfa-2-macroglobulina (4.1.4.7.);
- alfa-1-antitripsina (4.1.5.4.);
- antitrombina III (5.3.1.1.);
- timpul de recalcificare activat (5.2.1.4.);
- activitatea fibrinolitică (5.4.).
Tulburările metabolismului glucidic:
- proba cu galactoză (4.6.2.).
Tulburările metabolismului lipidic:
- colesterolul (4.7.1.3.), TG şi al.
Tulburările funcţiei de excreţie (absorbţie-excreţie) a ficatului:
Proba cu bromsulfaleină.
Proba cu vofaverdină.
Tulburările funcţiei de detoxifiere a ficatului:
Proba cu antipirină.
Proba cu cafeină.
Proba Kvik (proba de sinteză a acidului hipuric).
Testele sindromului de inflamaţie:
- fracţiunile proteice (gama-globulinele) (4.1.2.1.);
- probele de sedimentare (proba cu timol, cu sublimat corosiv) (4.1.2.6.; 4.1.2.7.);
- imunoglobulinele (G, M, A) (6.1.);
- anticorpii antimitocondriali (6.6.2.);
- anticorpii către musculatura netedă (6.4.8.2.);
- anticorpii antinucleari (6.6.3.);
- haptoglobina (4.1.11.2.);
- alfa-2-macroglobulina (4.1.4.7.);
- beta-2-microglobulina (4.1.5.4.);
Testele sindromului colestatic:
- fosfataza alcalină (FA) (4.5.3.14);
- izoenzimele FA (fracţiunea hepatică) (4.5.3.15.);
- gama-glutamiltranspeptidaza ((4.5.2.8.);
- leucinaminopeptidaza (LAP) (4.5.3.24.);
- 5-nucleotidaza (5-NT), CE 4.5.....(4.5.3.27.)
- bilirubina (totală şi conjugată) (4.4.1.1.);
- acizii biliari şi sărurile lor (1.1.2.8.);
- colesterolul (4.7.1.3.).
Lipoproteina X (LP-X).
- bilirubina în urină (1.1.2.6.);
- stercobilina în materiile fecale (1.2.1.4.).
Testele de şuntare hepatică (şuntarea porta-cavală).
Amoniacul.
Azotul aminic.
- Aminoacizii (tirozina, fenilalanina, triptofanul, metionina) (4.2.).
Fenolii.
- indicanul (în urină) (1.1.2.11.).
Sindromul de regenerare şi creştere tumorală:
- alfa-fetoproteina (6.17.1.1.).

4.11.2 Probele funcţionale renale

4.11.2.1 Viteza de filtrare glomerulară.
4.11.2.2 Clearence-ul:
- inulinei;
- ureei;
- creatininei endogene (proba Reberg).
4.11.2.3 Clearence-ul preparatelor glomerulotrope radiofarmaceutice (^{99}mTc-DTPA, ^{51}Cr-EDTH).

4.11.3 Secreţia tubulară, reabsorbţia tubulară.

4.11.3.1 Secreţia tubulară maximală a acidului p-aminohipuric.
4.11.3.2 Peabsorbţia tubulară maximală a glucozei.
4.11.3.3 Clearence-ul şi reabsorbţia electroliţilor.
- proba Reberg (4.12.1.1.).
4.11.3.4 Testele cu preparatele tubulotrope radi-

ofarmaceutice – ^{131}I-hipuran.

4.11.3.5 Valoarea circulației sanguine și plasmatice (după clearence-ul acidului p-aminohipuric și ^{131}I-hipuranului).

4.11.3.6 Funcția de reglare osmotică.

- densitatea relativă (1.1.1.2.).

4.11.3.7 Proba la diluarea urinei (încărcarea cu apă).

4.11.3.8 Proba la concentarea urinei.

4.11.3.9 Proba Zimnițki.

4.11.3.10 Osmolaritatea (osmolalitatea).

4.11.3.11 Funcția de excreție acidică (acidogeneză) a rinichilor:

- pH (1.1.2.1.).

4.11.3.12 Aciditatea titrată.

- amoniacul (4.11.5.1.).

4.11.3.13 Bicarbonații (cu supraîncărcarea parenterală sau enterală la adminisrarea intravenoasă sau per os).

4.11.3.14 Funcția de depurare a rinichilor:

- ureea (4.3.1.);
- creatinina (4.3.3.);
- moleculele cu masa medie (4.1.3.1.).

4.11.4 Testele de cercetare a metabolismului țesutului osos

- Calciul în serul sanguin (total și ionizat) (4.10.1.6.).
- Fosforul anorganic în serul sanguin (4.10.1.4.).

4.11.4.1. Vitamina D (calciferolul) în serul sanguin.

- Parathormonul în serul sanguin (4.10.1.4.).

4.11.3.2 Marcherii biochimici de formare osoasă (în serul sanguin):

- fosfataza alcalină (izoenzima osoasă) (4.5.3.15.).

4.11.4.2.1. Osteocalcina.

- procolagen-1-peptidele (peptida procolagen-1-C-terminală, peptida procolagen-1-N-terminală) (4.1.3.2.).

4.11.4.3 Marcherii biochimici de rezorbție osoasă:

- fosfataza acidă tartrat rezistentă în serul sanguin (4.5.3.12.);
- hidroxiprolina în urină (4.2.1.7.).

4.11.4.3.1 Glicozidele hidroxilizinei în urină (beta-1-galactolizil-O-hidroxilizina, alfa-1,2-glucozil-galactozil-O-hidroxilizina).

4.11.4.3.2 Legăturile piridinice încrucișate ale colagenului în urină: lizilpiridinolina sau deoxi-piridinolina (DPD) și hidroxilizil-piridinolina sau piridinolina (Pyd);

- telopeptidele legate încrucișat ale colagenului (N-terminal 1 NTP, C-terminal 1 CTP) în urină (4.1.3.3.).

4.11.5 Parametrii fizico-chimici ai sângelui.

4.11.5.1 Viscozitatea:

- sângelui integral;
- plasmei sanguine;
- serului sanguin.

4.11.5.2 Tensiunea superficială a plasmei sau serului sanguin.

4.11.5.3 Presiunea osmotică:

- plasmei sanguine;
- serului sanguin.

4.11.5.4 Presiunea oncotică (presiunea coloido-osmotică) a sângelui.

4.11.5.5 Indicele de refracție a plasmei sanguine (refractometria).

4.11.6 Indicii integrali chimici și fizico-chimici ai sângelui:

4.11.6.1 Fluorescența.

4.11.6.2 Grupele SH – glutationul redus.

4.11.6.3 Grupele –SS – glutationul oxidat.

4.11.6.4 Activitatea antioxidantă.

4.11.6.5 Indicii peroxidării lipidelor:

- dialdehida malonică (DAM);
- congugatele dienice ale acizilor grași;

4.11.6.6 Glutationul în hemolizatul eritrocitelor.

CAPITOLUL 5

CERCETĂRILE COAGULOLOGICE

5.1. Hemostaza vaso-plachetară (hemostaza primară).

- TROMBOCITELE (2.2.2.).

- Numărătoarea trombocitelor (2.2.2.1.).

- Caracteristica morfologică a trombocitelor (în frotiurile de sânge), inclusiv, determinarea dimensiunelor (micro, macrotrombocitele, formele gigantice) (2.2.2.2.).

- Volumul mediu al trombocitelor (MPV) (2.2.2.4.).

- Indicele anizocitozei trombocitelor (PDW) (2.2.2.5.).

- Repartizarea grafică a trombocitelor după dimensiuni, histograma (2.2.2.6.).

5.1.1. Receptorii trombocitelor IIb/IIIa, Ib.

5.1.2. Factorii de coagulare plachetari.

5.1.2.1. Factorul 3 plachetar după accesibilitatea sa în plasma bogată și săracă în trombocite.

5.1.2.2. Factorul 4 plachetar (antiheparinic).

5.1.2.3. Beta-tromboglobulina.

5.1.2.4. Trombospondina.

- fibronectina plasmei sanguine (4.1.4.4.).

5.1.2.5. Factorul de agregare leucocitar al trombocitelor (FAT).

5.1.2.6. Serotonina trombocitelor.

5.1.2.7. Fibronectina trombocitelor.

5.1.3. Factorul Willebrand și trombomodulina.

5.1.3.1. Activitatea factorului Willebrand (după agregarea ristomicinică a trombocitelor).

5.1.3.2. Antigenul factorului Willebrand.

5.1.3.3. Multimeritatea factorului Willebrand.

5.1.3.4. Interacțiunea factorului Willebrand cu trombocitele și factorul VIII.

5.1.3.5. Trombomodulina plasmei sanguine.

5.1.3.6. Alți factori plachetari.

5.1.4. Proprietățile funcționale ale trombocitelor.

5.1.4.1. Timpul de sângerare.

5.1.4.2. Rezistența (fragilitatea) microvaselor sanguine (proba Rumpel-Leede-Koncialovski).

- Adezivitatea trombocitelor (2.2.2.3.).

5.1.4.3. Retenția trombocitelor.

5.1.4.4. Agregarea (agregația) trombocitelor:

5.1.4.4.1. Agregarea spontană a trombocitelor.

5.1.4.4.2. Numărul de agregate trombocitare în sânge.

5.1.4.4.3. Agregarea trombocitelor în prezența agoniștilor: ADP, colagen, adrenalină, ristocitină (ristomicină), acid arahidonic, ionii de calciu, serotonină, trombină, monomerul de fibrină, factorul leucocitar de agregare plachetară (FAT).

5.1.4.5. Retracția chiagului de sânge.

5.1.4.6. Durata vieții trombocitelor în circulație.

- anticorpii către trombocite (6.5.5.).

5.1.4.7. Anticorpii către glicoproteinele IIb/IIIa.

5.2. Sistemul plasmatic de coagulare (hemostaza secundară).

5.2.1. Testele screening (de orientare). Testele coagulabilității globale.

5.2.1.1. Timpul de coagulare a sângelui nestabilizat (metoda Lee-White).

5.2.1.2. Timpul de tromboplastină parțial activat (TTPA).

5.2.1.3. Timpul de caolină al plasmei sărace în trombocite.

5.2.1.4. Timpul de caolină al plasmei bogate în trombocite (timpul de recalcificare activat).

5.2.1.5. Timpul de cefalină al plasmei sărace în trombocite (timpul parțial de tromboplastină).

5.2.1.6. Activitatea procoagulantă a membranelor fosfolipidice plasmatice (după timpul de caolină al plasmei sărace în trombocite până și după microfiltrare).

5.2.1.7. Timpul de protrombină (de tromboplastină) în sânge sau plasma sanguină.

5.2.1.8. Timpul de coagulare al plasmei sanguine la activarea factorului X cu lebetox (coagulaza veninului de lebetox) sau veninul viperei Rassel.

5.2.1.9. Timpul de coagulare al plasmei sanguine la activarea factorului II cu ehitox (coagulaza veninului de efa).

5.2.1.10. Timpul de trombină.

5.2.1.11. Timpul de reptilază (testul cu coagulaza veninului de viperă – Bothrops lachesis athrox și de Bothrops jararaca).

- fibrinogenul (factorul I) în plasma sanguină (4.1.5.7.), antigenul fibrinogenului.

5.2.2. Teste speciale.

5.2.2.1. Diagnosticul diferențial al deficitului factorilor VII, X, V sau II cu folosirea complexului de teste cu coagulazele veninului de șarpe și testului pro-

trombinic.

5.2.2.2. Factorii de coagulare VII, X, V sau II după testul protrombinic cu folosirea plasmei deficitare.

5.2.2.3. Antigenii factorilor de coagulare VII, X, V sau II.

5.2.2.4. Diagnosticul diferențial al deficitului factorilor VIII, IX sau XI prin examinarea timpului de tromboplastină parțial activat folosind plasma adsorbită cu bariu, plasma filtrată, plasma "veche" și serul sanguin.

5.2.2.5. Factorii de coagulare VIII, IX, XI sau XII după timpul de tromboplastină parțial activat cu folosirea plasmei deficitare.

5.2.2.6. Antigenii factorilor de coagulare VIII, IX, XI sau XII.

5.2.2.7. Inhibitorii factorului VIII sau IX.

5.2.2.8. Factorii necarboxilați VII, X și II (PIVKA).

5.2.2.9. Rezistența factorului Va față de proteina C activată (anomalia factorului V Leyden).

5.2.2.10. Anomalia factorului Va Leyden (analiza PCR).

5.2.2.11. Anomalia factorului II (analiza PCR).

5.2.2.12. Factorul XIII (factorul de stabilizare al fibrinei - FSF).

5.2.2.13. Precalicreina:
- activitatea precalicreinei;
- antigenul precalicreinei.

5.2.2.14. Kininogenul macromolecular (KMM):
- activitatea KMM;
- antigenul KMM.

5.3. Sistemul anticoagulant.

5.3.1. Anticoagulanții fiziologici.

5.3.1.1. Antitrombina III:
- activitatea progresivă a antitrombinei III;
- activitatea heparin co-factorială;
- antigenul antitrombinei III.

5.3.1.2. Cofactorul heparinei II.

5.3.1.3. Screeningul tulburărilor în sistemul proteinelor C+S.

5.3.1.4. Proteina C:
- activitatea proteinei C;
- antigenul proteinei C.

5.3.1.5. Proteina S:
- activitatea proteinei S;
- antigenul proteinei S (totale și libere).

5.3.1.6. Antigenul inhibitorului căii (mecanismului) de coagulare tisulară (TFPI).

5.3.1.7. Alfa-2-macroglobulina.
- alfa-1-antitripsina (4.1.5.4.).

5.3.1.8. C1 –inhibitorul.

5.3.1.9. Inhibitorul activității factorului Xa în plasma sanguină.

5.3.1.10. Timpul de trombină heparinică (testul screening).

5.3.2. Anticoagulanții patologici.

5.3.2.1. Anticoagulanții de tipul lupus (lupici).

5.3.2.1.1. Testele de coagulare fosfolipid-dependente (screeningul primar):
- timpul de tromboplastină parțial activat cu cefalină lupus-sensibilă;
- timpul de caolină cu plasma săracă în trombocite (5.2.1.3.);
- timpul de protrombină cu tromboplastina diluată (atenuată);
- testele cu veninul viperei Rassel diluat (atenuat).

5.3.2.1.2. Testele de confirmare:
- după corecția hipocoagulării cu trombocitele distruse (sau cu fosfolipide hexagonale) în testele, enumerate în p.5.3.2.1.1.;
- după adăugarea plasmei normale sărace în trombocite (corecția deficitului factorilor de coagulare).

5.3.2.1.3. Gradul de inhibare de către anticoagulantul lupic a activității membranelor fosfolipidice plasmatice.

5.3.2.1.4. Anticorpii către fosfolipidele cu sarcină negativă:
- anticorpii către fosfatidilserină (IgG, M) (6.6.1.3.);
- anticorpii către cardiolipină (IgG, M) (6.6.1.2.);
- anticorpii către beta-2-glicoproteină (IgG, M) (6.6.1.3.);
- anticorpii către anexina V.

5.4. Sistemul plasminic (fibrinolitic).

5.4.1. Testele screening.

5.4.1.1. Liza euglobulinică spontană.

5.4.1.2. Liza euglobulinică stimulată:
- la activarea cu streptokinază;
- cu factorul XIIa-kalicreină;
- proba cu manșeta (până și după compresia dozată a vaselor membrelor superioare);
- concentrația fibrinogenului în plasma sanguină (4.1.5.7.);
- timpul de trombină (5.2.1.11.);
- timpul de reptilază (5.2.1.12.).

5.4.2. Constituenții sistemului plasminic (fibrinolitic) și produsele de fibrinoliză.

5.4.2.1. Plasmina.

5.4.2.2. Plasminogenul:
- activitatea plasminogenului;
- antigenul plasminogenului;

- Precalicreina plasmatică în plasma sanguină (5.2.2.13.);
- Kininogenul macromolecular (KMM) (5.2.2.14.).

5.4.2.3. Antigenul activatorului tisular al plasminogenului (tPA).

5.4.2.4. Antigenul complexului plasmin-antiplasmină (PAP).

5.4.2.5. Produsele de degradare a fibrinogenului (fragmentele D).

5.4.2.6. Produsele de degradare a fibrinei (D-dimerul).

5.4.2.7. Produsele de degradare a fibrinogenului/fibrinei (PDF).

5.4.2.8. Complexele fibrin-monomerice solubile (CFMS) şi produsele timpurii de degradare a fibrinogenului (PTDF).

5.4.2.9. Alfa-2-antiplasmina:
- activitatea alfa-2-antiplasminei;
- antigenul alfa-2-antiplasminei.

5.4.2.10. Inhibitorul activatorului plasminogenului 1 (PAI 1):
- activitatea PAI 1;
- antigenul PAI 1.

5.4.2.11. Inhibitorul activatorului plasminogenului 2 (PAI 2):
- activitatea PAI 2;
- antigenul PAI 2;
- alfa-2-macroglobulina în plasma sanguină (5.3.1.7.);
- alfa-1-antitripsina (4.1.5.4.);
- C 1-inhibitor (5.3.1.8.).

5.5. Marcherii activării intravasculare a procesului de coagulare a sângelui şi fibrinolizei.

5.5.1. Antigenul fragmentelor protrombinei 1+2 (F1+2).

5.5.2. Antigenul complexului trombin-antitrombină III (TAT).

5.5.3. Derivaţii fibrinogenului în plasmă şi serul sanguin.

5.5.3.1. Antigenul fibrinopeptidei A în plasma sanguină.

5.5.3.2. Monomerul de fibrină în plasma sanguină:
- Produsele de degradare a fibrinogenului/fibrinei (PDF) (5.4.2.7.);
- Complexele fibrin monomerice solubile (CFMS) în plasma sanguină după testele de paracoagulare (5.4.2.8.);
- D-dimerul în plasmă şi serul sanguin (5.4.2.6.);
- CFMS şi produsele timpurii de degradare a fibrinogenului (PTDF) în serul sanguin (5.4.2.8.);
- Factorul 4 trombocitar în plasma sanguină;
- Beta-tromboglobulina în plasma sanguină.

5.6. Controlul terapiei anticoagulante.

Controlul medicaţiei cu anticoagulanţi indirecţi:
- Timpul protrombinic (tromboplastinic) în sânge sau plasma sanguină, exprimată în indicele internaţional de sensibilitate al tromboplastinei (IST) (5.2.1.7.);
- Timpul de tromboplastină parţial activat (TTPA) în plasma sanguină (5.2.1.2.);
- Screeningul tulburărilor în sistema proteinelor C+S (Testul global, parus-test) (5.2.1.2.).

Controlul terapiei cu heparine nefracţionate:
- timpul de coagulare a sângelui integral;
- timpul de tromboplastină parţial activat (TTPA) în plasma sanguină cu reactivul atestat după sensibilitate cu heparină (5.2.1.2.);
- TTPA în plasma sanguină până şi după absorbţia heparinei cu sorbentul Hepasorb-2;
- timpul de trombină al plasmei sanguine (5.2.1.11.);
- timpul de trombină al plasmei sanguine până şi după absorbţia heparinei cu sorbentul Hepasorb-1;
- antitrombina-III (5.3.1.1.);
- activitatea progresivă a antitrombinei III în plasma sanguină după absorbţia heparinei cu sorbent (Hepasorb-1);
- activitatea heparin-cofactorială în variantele coagulolitică şi amidolitică;
- timpul de trombină-heparinică în plasma săracă în trombocite (5.3.1.10.);
- dinamica conţinutului de complexe fibrin-monomerice în plasmă la etapele de tratament (5.4.2.8.);
- numărul de trombocite în sânge după 5-6 şi 14 zile de la iniţierea terapiei (2.2.2.1.).

Controlul terapiei cu heparine cu masa moleculară joasă:
- inhibitorul activităţii factorului Xa în plasma sanguină (5.3.1.9.);
- dinamica conţinutului de complexe fibrin-monomerice în plasmă la etapele de tratament (5.4.2.8.);
- numărul de trombocite în sânge după 5-6 şi 14 zile de la iniţierea terapiei (2..2.2.1.).

Controlul terapiei cu hirudină şi preparatele ei:
- TTPA (5.2.1.2.);
- timpul de trombină (5.2.1.11.);
- D-dimerii (5.4.2.6.).

Controlul terapiei cu fibrinolitice:
- plasminogenul (5.4.2.2.);
- fibrinogenul (4.1.5.7.);
- fragmentele D şi D-dimerele (5.4.2.35., 5.4.2.6.);

- activatorul tisular al plasminogenului (tPA);
- alfa 2-antiplasmina (5.4.2.9.);
- inhibitorul activatorului plasminogenului I (PAI I) (5.4.2.11);

Controlul terapiei cu antiagregantele trombocitare:

- agregarea trombocitelor în prezența agoniștilor - ADP și adrenalinei (5.1.4.4.3.);
- numărul de agregate trombocitare în sânge (5.1.4.4.2.);
- agregarea spontană a trombocitelor (5.1.4.4.1.).

5.7. Complexul de metode de diagnostic și monitorizare a tratamentului sindromului de coagulare intravasculară diseminată (CID).

Testele globale de coagulare.

- TTPA (5.2.1.2.);
- timpul de protrombină (tromboplastină) (5.2.1.7.);
- timpul de trombină (5.2.1.11.);
- fibrinogenul în plasma sanguină (4.1.5.7.).

Dozarea anticoagulanților fiziologici:

- antitrombina III (5.3.1.1.);
- proteina C (5.3.1.4.);
- marcherii activării intravasculare a coagulării sanguine și fibrinolizei (vezi compart. 5.5.);
- marcherii celulari;
- fragmentarea eritrocitelor (în frotiu sau în gradientul densității ficol/verografină) (2.2.1.6.);
- numărătoarea trombocitelor în sânge (2.2.22.1.);
- agregarea spontană a trombocitelor (5.1.4.4.1.)-

CAPITOLUL 6

Cercetările imunologice

6.1. Imunoglobulinele și componentele lor.
6.1.1. Imunoglobulina A (IgA)
6.1.1.1. subclasele IgA;
6.1.1.2. alotipurile IgA.
6.1.2. Imunoglobulina M (IgM):
6.1.2.1. subclasele IgM;
6.1.2.2. alotipurile IgM.
6.1.3. Imunoglobulina G (IgG):
6.1.3.1. subclasele IgG;
6.1.3.2. alotipurile IgG.
6.1.3.3. Fragmentele IgG (Fab, Fab2, Fa).
6.1.4. Imunoglobulina D (IgD).
6.1.5. Imunoglobulina E (IgE).
6.1.6. Lanțurile grele ale imunoglobulinelor (H).
6.1.7. Lanțurile ușoare ale imunoglobulinelor (L).
6.1.8. Idiotipurile de imunoglobuline.
6.1.9. Alte componente ale imunoglobulinelor.

6.2. Anticorpii către antigenii de origine vegetală, animală, chimică, medicamentoasă.
6.2.1. anticorpi către antigenii fungilor:
6.2.1.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.1.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.1.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.2. anticorpi către antigenii epidermali:
6.2.2.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.2.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.2.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.3. anticorpi către antigenii polenului:
6.2.3.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.3.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.3.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.4. anticorpi către antigenii alimentari:
6.2.4.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.4.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.4.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.5. anticorpi către antigenii medicamentelor:
6.2.5.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.5.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.5.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.6. anticorpi către gluten:
6.2.6.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.6.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.6.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.7. anticorpi către componentele laptelui de vacă:
6.2.7.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.7.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.7.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.8. anticorpi către antigenii sintetici:
6.2.8.1. anticorpii clasei IgE;
6.2.8.2. anticorpii clasei IgG;
6.2.8.3. anticorpii altor clase și subclase.
6.2.9. *anticorpii către alți antigeni.*
Se exclud: testele dermale.

6.3. Indicii factorilor de protecție naturală.
6.3.1. Sistemul compliment:
6.3.1.1. activitatea hemolitică totală;
6.3.1.2. C1 componentul (C1, C1q, C1r, C1s și al.);
6.3.1.3. C2 componentul (C2r, C2b și al.);
6.3.1.4. C3 componentul (C3, C3 NCF, C3a și al.);
6.3.1.5. C4 componentul (C4, C4f și al.);
6.3.1.6. Complexul care atacă membrana (CAM) C5-C9).
6.3.1.7. Proteinele (factorii) de inițiere și control al mecanismului alternativ de activare a complementului.
6.3.1.7.1. factorul B;
6.3.1.7.2. properdina;
6.3.1.7.3. factorul H;
6.3.1.7.4. factorul I;
6.3.1.7.5. factorul D;
6.3.1.7.6. alți factori..
6.3.1.8. inhibitorii sistemului complement.
6.3.1.9. Alți factori și proteine reglatoare.
6.3.2. proprietățile generale bactericide ale serului sanguin, secretelor;
6.3.3. activitatea totală antioxidantă a serului sanguin, plasmei sanguine;
6.3.4. lizozima;
6.3.5. lactoferina;
6.3.6. citochinele;
6.3.7. interferonii;
6.3.8. kilerii naturali;
6.3.9. eozinofilele;
6.3.10. alți indici ai imunității naturale.
Se exclud: proteinele fazei acute (4.1.10.).
Fagocitoza (6.15.).

6.4. Anticorpii către antigenii țesuturilor și ale componenților lor.

- anticorpi către antigenii glandei tiroide (GT) (4.9.3.3.):
- către tireoglobulină (4.9.3.3.2.);
- către peroxidaza tireoidă (4.9.3.3.1.);
- către fracția microsomală (4.9.3.3.3.).

6.4.1. Anticorpi către antigenii insulelor Langergance ale pancreasului.

6.4.2. Anticorpii către antigenii mieline:.

6.4.2.1. către proteina de bază a mielinei;

6.4.2.2. către proteina asociată cu mielina.

6.4.3. Anticorpii către antigenii celulelor glandelor salivare.

6.4.4. Anticorpii către antigenii miocardului.

6.4.5. Anticorpii către antigenii țesutului hepatic.

6.4.6. Anticorpii către antigenii țesutului renal.

6.4.7. Anticorpii către antigenii țesutului muscular:

6.4.7.1. către colagen;

6.4.7.2. către antigenii musculatrii netede;

6.4.7.3. către gliadină;

6.4.7.4. către antigenii cristalinului.

6.4.8. Anticorpii către antigenii gastrici:

6.4.8.1. către celulele parietale;

6.4.8.2. către componentele mucoasei stomacale.

6.4.9. Anticorpii către alți antigeni tisulari.

6.5. Anticorpi către celulele sângelui, țesutului conjunctiv, secretelor.

6.5.1. Anticorpii către limfocite:

6.5.1.1. către T limfocite;

6.5.1.2. către B limfocite.

6.5.2. Anticorpi către eritrocite:

6.5.2.1. clasei IgG;

6.5.2.2. clasei IgM.

6.5.3. Anticorpi către celulele endoteliale:

6.5.3.1. clasei IgG;

6.5.3.2. clasei IgM.

6.5.4. Anticorpi către fibroblaste:

6.5.4.1. clasei IgG;

6.5.4.2. clasei IgM.

6.5.5. *Anticorpi către trombocite:*

6.5.5.1. clasei IgG;

6.5.5.2. clasei IgM.

6.5.6. Anticorpi către granulocite.

6.5.7. Anticorpi către antigenii lichidului spermal:

6.5.7.1. către spermatozoizi.

6.5.8. Anticorpi către antigenii sistemei HLA ale leucocitelor:

6.5.8.1. clasei IgG;

6.5.8.2. clasei IgM.

6.5.9. anticorpi către alte celule.

6.6. Anticorpi către structurile subcelulare.

6.6.1. anticorpi către membranele celulare:

6.6.1.1. către fosfolipide;

6.6.1.2. către cardiolipine.

6.6.1.2.1. IgG

6.6.1.2.2. IgM

6.6.1.2.3. IgA

6.6.1.3. către fosfatidilserină:

6.6.1.3.1. IgG

6.6.1.3.2. IgM

6.6.2. Anticorpi către mitocondrii.

6.6.3. Anticorpi către antigenii nucleului celular:

6.6.3.1. către AND;

6.6.3.2. către histone (nucleoproteine);

6.6.3.3. către centromeri.

6.6.4. Anticorpi către proteina ribosomală.

6.6.5. Anticorpi către antigenii nucleari de extracție:

6.6.5.1. către macroglobulina solubilă;

6.6.5.2. către pibonucleoproteină;

6.6.5.3. către SS-A (Ro);

6.6.5.4. către SS-B (La);

6.6.5.5. către SL-70;

6.6.5.6. către antigenul nuclear, asociat cu artrita reumatoidă.

6.6.6. Anticorpi către microsomi.

6.6.7. Anticorpi către alte componente celulare.

6.7. Anticorpi către metaboliții celulari și receptorii lor.

6.7.1. Anticorpi către mieloperoxidază.

6.7.2. Anticorpi către protrombinază.

6.7.3. Anticorpi către receptorul acetilcolinei.

6.7.4. Anticorpi către alți metaboliți celulari și receptorii lor.

6.8. Anticorpi către imunoglobuline și fragmentele lor.

6.8.1. Anticorpi către IgA.

6.8.2. Anticorpi către IgM.

6.8.3. Anticorpi către IgG.

6.8.3.1. către Fc fragmentul IgG (factorul reumatoid).

6.8.4. Anticorpi antiidiotipici.

6.8.5. Anticorpi către alte imunoglobuline și fragmentele lor.

6.9. Anticorpi către hormoni și receptorii lor.

- Anticorpi către hormonii și secretele glandei ti-

roide (4.9.3.3.):

- către T3 (4.9.3.3.5.);
- către T4 (4.9.3.3.4).

6.9.1. către calcitonină.

- anticorpi către hormonii hipofizari:
- către tireotropină (TTH)(4.9..2.2.5.).
- anticorpi către receptorul tireotropinei (TTH) (4.9.2.2.6.):
- blocanți;
- stimulanți.

6.9.2. Anticorpi către hormonii suprarenalelor:

6.9.2.1. către adrenalină;

6.9.2.2. către noradrenalină.

- anticorpi către hormonii glandei pancreatice:
- către insulină (4.9.12.9.).

6.9.3. Anticorpi către alți hormoni și receptorii lor.

6.10. Sistemul antigenic (receptor) al eritrocitelor.

6.10.1. Sistemele de bază ale antigenilor eritrocitelor:

6.10.1.1. Sistemul ABO 1.1 A1 1.2.A2 1.3 A3 1.4.B.

6.10.1.2. Sistemul resus.

6.10.2. Subgrupele sistemelor antigenilor eritrocitelor:

6.10.2.1. sistemul antigenelor Lewis (LE);

6.10.2.2. sistemul antigenelor Kell (K);

6.10.2.3. sistemul antigenelor Duffy (Fy);

6.10.2.4. sistemul antigenelor Kidd (jk);

6.10.2.5. sistemul antigenelor Diego (Di);

6.10.2.6. sistemul antigenelor MNSs;

6.10.2.7. sistemul antigenelor P (Pp);

6.10.3. Reacția Coombs:

6.10.3.1. directă;

6.10.3.2. indirectă.

6.10.4. Hemaglutinina.

6.10.5. Testul enzimatic pentru grupele sanguine.

6.10.6. Alți antigeni ale eritrocitelor.

6.11. Antigenii complexului principal de histocompatibilitate (HLA).

6.11.1. Antigenii HLA clasei I:

6.11.1.1. antigenii HLA-A;

6.11.1.2. antigenii HLA-B;

6.11.1.3. antigenii HLA-C;

6.11.1.4. alți antigeni tipizați.

6.11.2. Antigenii HLA clasei II:

6.11.2.1. antigenii HLA-DR;

6.11.2.2. antigenii HLA-DQ;

6.11.2.3. antigenii HLA-DO;

6.11.2.4. alte complexe antigenice tipizate.

6.12. Sistemele antigenice ale altor celule sanguine.

6.12.1. Sistemul antigenic al trombocitelor:

6.12.1.1. antigenii HLA;

6.12.1.2. antigenii ABO.

6.12.2. Sistemul antigenic al granulocitelor.

6.12.3. Sistemul antigenic al monocitelor.

6.12.4. Sistemul antigenic al celulelor-NK.

6.12.5. Autoantigenii.

6.12.6. Sistemul antigenic al altor celule sanguine.

6.13. Identificarea T-limfocitelor.

6.13.1. Antigenii de diferențiere (CD3, CD4, CD8, CD25 și al.):

6.13.1.1. antigenii T-limfocitelor activate;

6.13.1.2. alți antigeni T-limfocitari.

6.13.2. Subclasele de T-celule:

6.13.2.1. T-helperii (Th1; Th2);

6.13.2.2. T-limfocitele citotoxice.

6.13.3. T-receptorul celular.

6.13.4. Receptorii către factorii de creștere.

6.13.5. Receptorii adezivi către eritrocite.

6.13.6. Receptorii către fragmentele Fc ale imunoglobulinelor:

6.13.6.1. către Fc IgG;

6.13.6.2. către Fc IgM.

6.13.7. Receptorul către interleucină:

6.13.7.1. IL-1;

6.13.7.2. IL-2.

6.13.8. Receptorul către histamină.

6.13.9. Receptorul pentru virusul pojarului;

6.13.10. alte antigene și receptori ale T-limfocitelor.

6.14. Identificarea B-limfocitelor.

6.14.1. Antigenii de diferențiere (CD19 și al.):

6.14.1.1. antigenii B-limfocitelor activate;

6.14.1.2. celulelor plasmatice.

6.14.2. Receptorul B-celular:

6.14.2.1. expresia IgD (mIgM) (S-IgD);

6.14.2.2. expresia IgM (mIgM);

6.14.2.3. expresia IgG (mIgG);

6.14.2.4. expresia IgA (mIgA);

6.14.2.5. receptorul către C3 componentul complementului 1.C3b 2.C3d.

6.14.3. Receptorul către virusul Epstein-Barr.

6.14.4. Receptorul către fragmentul Fc al imunoglobulinelor:

6.14.4.1. către Fc IgM;

6.14.4.2. către Fc IgG.

6.14.5. Alți antigeni și receptori.

6.15. Identificarea neutrofilelor (granulocitelor).

6.15.1. Antigenii de diferențiere.

6.15.2. Receptorii către componentele sistemului complement:

6.15.2.1. receptorul către C3B componentul complementului;

6.15.2.2. către C1q;

6.15.2.3. către C5a.

6.15.3. Receptorii către fragmentul Fc al imunoglobulinelor:

6.15.3.1. către fragmentul Fc al IgG;

6.15.3.2. către fragmentul Fc al IgM.

6.15.4. Receptorii către eritrocitele:

6.15.4.1. de berbec;

6.15.4.2. de șoarece.

6.15.5. Semnele reactivității neutrofilelor.

6.15.5.1. metaboliții activați al oxigenului:

- metaboliții primari;
- metaboliții secundari.

6.15.5.2. Moleculele de adeziune.

6.15.5.3. Hemotaxis.

6.15.5.4. Lizozomii (granulele):

6.15.5.4.1. specifice;

6.15.5.4.2. azurofile.

6.15.5.5. Endocitoza.

6.15.6. Factorii antimicrobieni ai neutrofilelor:

6.15.6.1. proteinele cationice (catepsinele și al.);

6.15.6.2. lizozima;

6.15.6.3. lactoferina;

6.15.6.4. proteinazele (neutre, acide);

6.15.6.5. metaboliții primari.

6.15.7. Alți indici.

6.16. Indicii reactivității modificate.

6.16.1. Aglutininele "la rece".

6.16.2. Anticorpii heterofilici.

6.16.3. Crioglobulinele.

6.16.4. Complexele imune circulante.

6.16.5. Degranularea celulelor:

6.16.5.1. mastocitelor;

6.16.5.2. bazofilelor.

6.16.6. Reacția de inhibiție a migrării leucocitelor.

6.16.7. Reacția de blasttransformare a limfocitelor:

6.16.7.1. B-limfocitelor;

6.16.7.2. T-limfocitelor.

6.16.8. Anafilaxia cutanată pasivă in vitro.

6.16.9. Anafilaxia cutanată activă in vitro.

6.16.10. Alți indici ai reactivității modificate.

Sunt excluse: reacțiile alergice (6.2.).

Testele dermale.

Fagocitoza (6.15.).

Citochinele (6.3.6.).

Interferonul (6.3.7.).

6.17. Factorii umorali ai celulelor imunocompetente și altor celule cu rol în reglarea homeostaziei (citochinele).

6.17.1. citochinele care participă la reglarea inflamației:

6.17.1.1. interleucinele;

6.17.1.2. interferonii;

6.17.1.3. factorul de necroză tumorală (TNF);

6.17.1.4. alți factori.

6.17.2. citochinele care participă la reglarea hemopoezei:

6.17.2.1. interferonii;

6.17.2.2. factorii de stimulare a coloniilor;

6.17.2.3. factorii de formare a coloniilor;

6.17.2.4. factorul de necroză tumorală (TNF);

6.17.2.5. alți factori.

6.17.3. citochinele care participă la reglarea activității neutrofilelor:

6.17.3.1. alți factori.

6.17.4. citochinele care participă la reglarea activității kilerilor naturali:

6.17.4.1. interleucinele;

6.17.4.2. interferonii;

6.17.4.3. alți factori.

6.17.5. citochinele care participă la reglarea activității T limfocitelor:

6.17.5.1. interleucinele;

6.17.5.2. interferonii;

6.17.5.3. factorul de necroză tumorală (TNF);

6.17.5.4. alți factori.

6.17.6. citochinele care participă la reglarea activității B limfocitelor:

6.17.6.1. interleucinele;

6.17.6.2. interferonii;

6.17.6.3. factorul de necroză tumorală (TNF);

6.17.6.4. alți factori.

6.17.7. citochinele care participă la reglarea activității fibroblaștilor:

6.17.7.1. interleucinele;

6.17.7.2. factorul trombocitar de creștere (PF-4);

6.17.7.3. factorul de necroză tumorală (TNF);

6.17.7.4. alți factori.

6.17.8. citochinele care participă la reglarea activității monocitelor.

6.17.9. citochinele care participă la reglarea activității eozinofilelor.

6.17.10. citochinele care participă la reglarea activităţii macrofagelor.

6.17.10.1. interleucinele;

6.17.10.2. interferonii;

6.17.10.3. factorul de necroză tumorală (TNF);

6.17.10.4. factorii de formare a coloniilor;

6.17.10.5. alţi factori.

6.17.11. citochinele care participă la reglarea activităţii altor celule.

6.17.12. Prostaglandinele:

6.17.12.1. grupa A;

6.17.12.2. grupa B;

6.17.12.3. grupa E;

6.17.12.4. grupa F;

6.17.13. Alţi factori de reglare.

6.18. Indicii imunităţii antitumorale.

6.18.1. Antigenii tumorilor "cancerogene":

6.18.1.1. alfa-fetoproteina;

6.18.1.2. antigenul cancerului embrionar;

6.18.1.3. carboantigenii:

- CA-19-9;
- CA-125;
- CA-15-3;
- CA-72-4.

6.18.1.4. MCA.

6.18.1.5. Enolaza.

6.18.1.6. PSA:

6.18.1.6.1. PSA total;

6.18.1.6.2. PSA liber;

6.18.1.6.3. PSA liber/PSA total.

6.18.2. Proteinele mielomice.

6.18.3. Telomeraza.

6.18.4. Kilerii naturali.

6.18.5. Anticorpii antitumorali.

6.18.6. Limfocitele citotoxice.

6.18.7. Toleranţa imunologică

6.18.8. Limfocitele sensibilizate:

6.18.8.1. inhibiţia creşterii coloniilor de celule tumorale in vitro.

6.19. Indicii toleranţei imunologice.

6.19.1. Afinitatea anticorpilor.

6.19.2. Anticorpii antiidiotipici.

6.19.3. Toleranţa B-celulelor.

6.19.4. Toleranţa T-celulelor.

6.19.5. Celulele care leagă antigenul.

6.19.6. Blocada receptorilor.

6.19.7. Alţi indici.

CAPITOLUL 7

CERCETĂRILE CHIMICO-TOXICOLOGICE

7.1. Substanțele, determinarea cărora se efectuează în laboratoarele de chimie și toxicologie ale centrelor, clinicilor, secțiilor de intoxicații acute (cercetarea generală).

7.1.1. Substanțe toxice de casă, toxine agricole.

7.1.1.1. Pesticidele, inhibitorii colinesterazei.

7.1.1.1.1. Clortiofos;

7.1.1.1.2. Metafos;

7.1.1.1.3. Bytex.

7.1.1.1.4. Foxim;

7.1.1.1.5. Sumition;

7.1.1.1.6. Fozalon;

7.1.1.1.7. Actelic;

7.1.1.1.8. Phtalofos

7.1.1.1.9. Carbofos;

7.1.1.1.10. Diazinona și alți compuși fosfoorganici.

7.1.1.2. Insecticidele clorurate:

7.1.1.2.1. DDT;

7.1.1.2.2. Hexaclorbenzen;

7.1.1.2.3. Toxafen;

7.1.1.2.4. Acid 2,4-diclorfenilacetic;

7.1.1.2.5. Clorden;

7.1.1.2.6. Heptaclor;

7.1.1.2.7. Aldrină;

7.1.1.2.8. Dieldrină.

7.1.1.3. Piretroizii sintetici:

7.1.1.3.1. aletrina;

7.1.1.3.2. flucitrinag;

7.1.1.3.3. fenflutrina;

7.1.1.3.4. permetrina;

7.1.1.3.5. decis;

7.1.1.3.6. cipermetrina;

7.1.1.3.7. sumecidina.

7.1.2. Substanțe toxice industriale, solvenți.

7.1.2.1. Hidrocarburi halogenate.

7.1.2.1.1. tetraclorura de carbon;

7.1.2.1.2. metilclorid;

7.1.2.1.3. metiliodid;

7.1.2.1.4. metilbromid;

7.1.2.1.5. Cloroform;

7.1.2.1.6. Dicloretan;

7.1.2.1.7. Tricloretilen;

7.1.2.1.8. Percloretilen.

7.1.2.2. Alcoolii, glicolii și esterii lor:

7.1.2.2.1. metanol;

7.1.2.2.2. etanol;

7.1.2.2.3. etilengicol;

7.1.2.2.4. dietilenglicol;

7.1.2.2.5. etilcabitol;

7.1.2.2.6. metilcarbitol;

7.1.2.2.7. Propanol;

7.1.2.2.8. Izopropanol;

7.1.2.2.9. Butanol și izomerii lui;

7.1.2.2.10. Pentanol și alți alcooli superiori.

7.1.2.3. Esterii, aldehidele, cetonele:

7.1.2.3.1. formaldehida;

7.1.2.3.2. acroleina;

7.1.2.3.3. aldehida malonică;

7.1.2.3.4. acetona;

7.1.2.3.5. dietilcetona;

7.1.2.3.6. dioxan;

7.1.2.3.7. aldehida acetică;

7.1.2.3.8. paraldehida;

7.1.2.3.9. metiletilcetona;

7.1.2.3.10. eterul dietilic și eterii altor alcooli.

7.1.2.4. Substanțe toxice metalice:

7.1.2.4.1. stibiu și sărurile lui;

7.1.2.4.2. stibina;

7.1.2.4.3. arseniu și sărurile lui;

7.1.2.4.4. arsina;

7.1.2.4.5. cadmiu și sărurile lui;

7.1.2.4.6. crom și sărurile lui;

7.1.2.4.7. mercur și sărurile lui;

7.1.2.4.8. metilmercur;

7.1.2.4.9. plumb și sărurile lui;

7.1.2.4.10. tetraetil de plumb și alți compuși metaloorganici ai metalelor grele..

7.1.3. Toxine medicamentoase (medicinale):

7.1.3.1. Remedii analgezice, antipiretice, antiinflamatoare;

7.1.3.1.1. Salicilații;

7.1.3.1.2. Fenacetină;

7.1.3.1.3. Paracetamol;

7.1.3.1.4. Amidopirină;

7.1.3.1.5. Antipirină;

7.1.3.1.6. Fenilbutazon;

7.1.3.1.7. Cincofen;
7.1.3.2. Anestezice:
7.1.3.2.1. cocaină;
7.1.3.2.2. procaină;
7.1.3.2.3. lidocaină;
7.1.3.2.4. eterul dietilic;
7.1.3.2.5. atropină;
7.1.3.2.6. halotan;
7.1.3.2.7. clorpropan;
7.1.3.2.8. eterul divinilic.
7.1.3.3. Depresantele.
7.1.3.3.1. Barbituricele:
7.1.3.3.1.1. alobarbital;
7.1.3.3.1.2. amobarbital;
7.1.3.3.1.3. barbital;
7.1.3.3.1.4. pentobarbital;
7.1.3.3.1.5. fenobarbital;
7.1.3.3.1.6. benzonal;
7.1.3.3.1.7. ciclobarbital.
7.1.3.3.2. Antiepilepticele:
7.1.3.3.2.1. carbamazepină;
7.1.3.3.2.2. etotoin;
7.1.3.3.2.3. fensuccinimidă;
7.1.3.3.2.4. fenitoină;
7.1.3.3.2.5. primidonă;
7.1.3.3.3. Analgezicele opioide:
7.1.3.3.3.1. codeina;
7.1.3.3.3.2. dextrometorfan;
7.1.3.3.3.3. fentanil;
7.1.3.3.3.4. heroină;
7.1.3.3.3.5. metadon;
7.1.3.3.3.6. morfină;
7.1.3.3.3.7. naltrexon;
7.1.3.3.3.8. hidrocodon;
7.1.3.3.3.9. nalorfin.
7.1.3.3.4. Derivaţii fenotiazinei:
7.1.3.3.4.1. aminazină;
7.1.3.3.4.2. clorprotixen;
7.1.3.3.4.3. Etaperazina şi alte fenotiazine.
7.1.3.3.4.4. promazină;
7.1.3.3.4.5. tioridazină;
7.1.3.3.4.6. trifluopromazină;
7.1.3.3.4.7. tizercină;
7.1.3.3.4.8. neuleptină;
7.1.3.3.4.9. clorpromazină;
7.1.3.3.4.10. perfenazină;
7.1.3.3.5. Derivaţii 1,4-benzodiazepinei:
7.1.3.3.5.1. clozepidă;
7.1.3.3.5.2. clonazepam;
7.1.3.3.5.3. diazepam;
7.1.3.3.5.4. flurazepam;
7.1.3.3.5.5. lorazepam;
7.1.3.3.5.6. prazepam;
7.1.3.3.5.7. temazepam;
7.1.3.3.5.8. oczazepam;
7.1.3.3.5.9. tazepam;
7.1.3.3.5.10. fenazepam şi alte benzodiazepine.
7.1.3.3.6. Antidepresivele policiclice:
7.1.3.3.6.1. amitriptilină;
7.1.3.3.6.2. imipramină;
7.1.3.3.6.3. dezipramină;
7.1.3.3.6.4. protriptilină;
7.1.3.3.6.5. doxepină;
7.1.3.3.6.6. ciclobenzaprină;
7.1.3.3.6.7. trimitpramina;
7.1.3.3.6.8. nortriptilină;
7.1.3.3.6.9. azofen;
7.1.3.3.6.10. clorprotixen şi alte antidepresive policiclice.
7.1.3.4. Stimulatorii psihomotori ai seriei amfetaminelor:
7.1.3.4.1. Amfetamină.
7.1.3.4.2. 3,4-metilendioxiamfetamină;
7.1.3.4.3. 4,4-metilendioxiamfetamină;
7.1.3.4.4. 4-metoxiamfetamină;
7.1.3.4.5. 2,5-dimetoxiamfetamină;
7.1.3.4.6. 3,4,5-trimetoxiamfetamină;
7.1.3.4.7. 2,5-dimetoxi-4-brom-amfetamină;
7.1.3.4.8. 2,5-dimetoxi-4-etil-amfetamină;
7.1.3.4.9. 3,4,5-trimetoxifen- etilamină (mescalină);
7.1.3.4.10. Metamfetamina (pervitina) şi alte amfetamine.

7.2. Substanţele care se determină în laboratoarele de chimie şi toxicologie ale spitalelor şi dispensarelor narcologice.

7.2.1. Remediile stupefiante şi substanţele psihotrope circulaţia cărora este interzisă în Republica Moldova.

7.2.1.1. Fenamina şi preparatele medicamentoase combinate ce conţin fenamina.
7.2.1.2. Amfetamina şi derivaţii ei sintetici.
7.2.1.3. Alcaloizii opiului, derivaţii sintetici şi analogii lui.
7.2.1.4. Fenciclidina şi analogii lui sintetici.
7.2.1.5. Fentanilul şi analogii lui sintetici.
7.2.1.6. Acidul lizerginic şi derivaţii lui.
7.2.1.7. Metadon şi izomerii lui optici.
7.2.1.8. Metacvalon.
7.2.1.9. Metilfenidat.
7.2.1.10. Dexaamfetamină.
7.2.1.11. Catinon.

7.2.2. Remediile stupefiante şi substanţele psihotrope circulaţia cărora este limitată în RM şi în privinţa cărora sunt stabilite măsuri de control.

7.2.2.1. Alfentanil.

7.2.2.2. Noxiron.

7.2.2.3. Buprenorfină.

7.2.2.4. Cocaină.

7.2.2.5. Omnopon.

7.2.2.6. Clozepid şi alţi derivaţi ai 1,4-benzodiazepinei.

7.2.2.7. Ketamină.

7.2.2.8. Fentermină.

7.2.2.9. Etaminal de sodiu şi alţi derivaţi al acidului barbituric.

7.2.3. Substanţele psihotrope circulaţia cărora este limitată în RM şi în privinţa cărora se permite excluderea unor măsuri de control.

7.2.3.1. Aminorex.

7.2.3.2. Benzfetamină.

7.2.3.3. Mefenorex.

7.2.3.4. Pentobarbital.

7.2.3.5. Taren.

7.2.3.6. Fendimetrazin.

7.2.3.7. Fenproporex.

7.2.3.8. Lefetamin.

7.2.3.9. Cipeprol.

7.2.3.10. Etilamfetamin.

7.3 Remediile medicamentoase care sunt supuse monitoringului terapeutic medicamentos (MTM).

Determinarea în plasma sanguină:

Remediile medicamentoase care acţionează asupra sistemului cardio-vascular:

Digitoxină.

Digoxină.

Dizopiramidă (ritmilenă).

Lidocaină.

Mexiletină (mexitil).

Chinidină.

Teofilină.

Remediile medicamentoase cu acţiune asupra sistemului nervos:

Amitriptilină;

Galoperdol;

- diazepam (seduxen) (7.1.3.3.5.3.);
- imipramin (imizină) (7.1.3.3.6.2.);
- clonazepam (7.1.3.3.5.2.).

Litiu.

- oxazepam (tazepam) (7.1.3.3.5.9.).

Sidnocarb.

Clordiazepoxid (elenium).

Clorpromazină (aminazină).

Antiepilepticele:

Carbamazepină (tegretol);

Fenitoină (difenină);

- fenobarbital (7.1.3.3.1.5.);

Etosuximidă;

Acidul valproic.

Analgezicele, antipireticele şi antiinflamatoarele nesteroidiene:

Indometacina;

- acetoaminafen (paracetamol) (7.1.3.1.3.).

Chimioterapicele antimicrobiene:

Amicacină;

Amfotericină;

Gentamicină;

Vancomicină.

Imunodepresivele:

Ciclosporina.

Chimioterapicele anticanceroase:

Metotrexat.

Determinarea în urină:

Metaboliţii benzodiazepinei.

- barbituricele (7.11.3.3.1.).

Metaboliţii morfinei.

CAPITOLUL 8

CERCETĂRILE MICROBIOLOGICE

8.1 Bacteriologia*

8.1.1 Cercetări la microscop

Depistarea microorganismelor în preparatele native.**	
Genul Actinomyces	preparatul picătura strivită
Bacteroides fragilis	microscopia cu fluorescență
Bacteroides melaninogenicus	microscopia cu fluorescență
Genul Borrelia	microscopia cu fond negru
Borrelia burgdorferi	microscopia cu fond negru
Borrelia recurrentis	microscopia cu fond negru
Campylobacter	microscopia cu fond negru
Helicobacter pylori	microscopia cu contrast de fază
Leptospira interrogans	microscopia cu contrast de fază
Treponema pallidum	microscopia cu contrast de fază
Alte microorganisme	

Depistarea microorganismelor în preparatele native colorate.**	
Genul Actinomyces	Colorația Gram, Ziehl-Nielsen, Romanovski-Giemsa
Bacillus anthracis	Colorația Gram, colorarea sporilor după Ogeşko
Genul Bacteroides	Colorația Gram, Leffleur
Genul Borrelia	Colorația Romanovski-Giemsa, Burry
Genul Campylobacter	Colorarea cu fuxină bazică (10-20 min)
Chlamydia trachomatis	Colorația Romanovski-Giemsa, Makiavello
Clostridium perfringens	Colorarea capsulelor după Gins
Corynebacterium diphtheriae	Colorația Romanovski-Giemsa, Leffleur
Genul Fusobacterium	Colorația Romanovski-Giemsa
Gardenerella vaginalis	Colorația Romanovski-Giemsa
Helicobacter pylori	Colorarea cu hematoxilină-eozină, impregnația cu argint după Wortin-Starry, portocaliu de acridină
Haemophilus ducreyi	Colorația Gram
Leptospira interrogans	Colorația Romanovski-Giemsa
Genul Mycobacterium	Colorația Pfeifer
M. tuberculosis	Colorația Ziehl-Neelsen
Neisseria gonorrhoeae	Colorarea cu albastru de metilen, colorația Gram
Neisseria meningitidis	Colorarea cu albastru de metilen, colorația Gram
Genul Nocardia	Colorația Gram, Ziehl-Neelsen
Genul Peptococcus	Colorația Gram
Genul Peptostreptococcus	Colorația Gram
Streptococcus pneumoniae	Colorația Gram, Gins (capsulele)
Treponema pallidum	Colorația Romanovski-Giemsa, metoda de argintare după Morozov, Levaunty, Fontan şi Trotondo, colorația Burry
Alte microorganisme	

8.1.2 Cercetări bacteriologice (cultivarea şi identificarea)

8.1.2.1 Cultivarea şi identificarea după teste biochimice

Microorganismele patogene – agenţii bolilor infecţioase.

Genul Actinomyces A. bovis, A.israelii A.albus. A.naeslundii	Agentul patogen al actinomicozei în puroi, spută, secreţiilor din sinusurile drenate, în sânge, lichidul pleural, bioptatelor pulmonare, din oase şi al., lichidul cefalorahidian, urină, materiile fecale, materialul necroptic
Bacillus anthracis	Agentul patogen al antraxului în conţinutul bulelor, secreţiilor din carbuncule, ulceraţii, în sânge, urină, spută, materiile fecale, punctatelor nodurilor limfatici, materialul necroptic
Genul Bordetella B. pertussis, B.parapertussis	Agentul patogen al tusei convulsive în secreţiile din rinofaringe
Borrelia burgdorferi	Agentul patogen al boreliozei în sânge, lichidul cefalorahidian, bioptatelor dermale, eritemei migrante
Genul Brucella B.abortus, B.canis B. melitensis, B. Suis	Agentul patogen al brucelozei în sânge, lichidul cefalorahidian, secretul conjunctival, laptele de femeie, lichidul periarticular, aspiratele măduvii hematogene, bioptatele hepatice, lichidul amniotic, urină, materiile fecale, materialul necroptic
Genul Campylobacter C.jejuni, C.coli, C.lari	Agentul patogen al campilobacteriozei în sânge, materiile fecale, apa potabilă, produsele alimentare
Chlamydia trachomatis	Agentul patogen al trahomei, clamidiozei urogenitale şi conjunctivitei nou-născuţilor, în secretul prostatic, bioptatele endometriale, produsele obţinute prin raclarea canalului cervical, a vulvei la fetiţe, a uretrei şi a conjunctivei pleoapelor, urina la băieţi, mucozitatea de pe peretele posterior al faringelui
Chlamydia pneumoniae	Agentul patogen al clamidiozei respiratorii în spută, lichidul bronho-alveolear
Clostridium botulinum	Agentul patogen al botulismului, în masele vomitive, bilă, conţinutul duodenal, urină, material necroptic
Clostridium perfringens	Agentul patogen al gangrenei gazoase,în abscese,bioptatele ţesuturilor,sânge, lichidul pleural; agentul patogen al toxicoinfecţiilor
Clostridium tetani	Agentul patogen al tetanusului în bioptate, exsudate, corpurile străine, tamponul din plagă, secreţiile vaginale, uterine, sânge
Corynebacterium Diphtheriae	Agentul patogen al difteriei în mucozitatea vestibului faringian, mucozitatea nazală, peliculele de pe amigdale, secreţiile organelor genitale ale fetiţelor, secreţiile oculare, dermale, plăgii ombilicare
Genul Esherichia E. coli enterotoxigenic ETEC E. coli enteroinvasive EIEC E. coli enteropathogenic EPEC E. coli enterohaemorragic EYEC	Agentul patogen al escherihiozelor în materiile fecale, masele vomitive, bilă, conţinutul duodenal, urină, materialul necroptic
Haemophilus ducreyi	Agentul patogen al şancrului moale în secreţiile din ulceraţii

Haemophilus Influenzae, tip capsular a, b, c, d, e, f	Agentul patogen al meningitei, maladiilor bronho-pulmonare în lichidul cefalorahidian, sânge, spută
Legionella pneumophyla	Agentul patogen al legionelezei în aspiratele din bronşii, lavajul bronho-pulmonar, lichidul pleural, materialul necroptic
Leptospira interrogans	Agentul patogen al leptospirozei în sănge, lichidul cefalorahidian, urină
Listeria monocytogenes	Agentul patogen al listeriozei în sânge, sângele ombilical, lichidul cefalorahidian, secreţiile vestibului faringian, nazale, oculare, punctatele nodurilor limfatici, lichidul amniotic, materialul hecroptic
Mycobacterium tuberculosis	Agentul patogen al tuberculozei în spută, biolichide (pleural, sinovial, cefalorahidian, pericardial), aspiratele bronho-traheale, puroi, sânge, măduva hematogenă
Mycoplasma genitalium	Agentul patogen al micoplasmozei urogenitale în materialul obţinut prin raclare a uretrei, canalului cervical
Neisseria gonorrhoeae	Agentul patogen al gonoreei în secreţiile uretrale, vaginale, colul uterin, prostată, rectum, faringe, ochi, în sânge
Neisseria meningitidis	Agentul patogen al meningitei în lichidul cefalorahidian, sânge, secretul rinofaringeal, materialul necroptic
Pseudomonas mallei	Agentul patogen al morvei în sânge, urină, spută, secreţiile din plăgi, nazale, materialul necroptic
Pseudomonas pseudomallei	Agentul patogen al melioidozei în sânge, spută, urină, supuraţia din abscese, secreţiei nazale, materialul necroptic
Genul Salmonella S. typhi, S.paratyphi A, S.paratyphi B	Agentul patogen al febrei tifoparatifoidice în materiile fecale, sânge,urină, bilă, exsudat obţinut prin raclarea rozeolelor, materialul necroptic
S. cholerae suis, S. typhimurium, S. enteritidis Salmonella spp	Agentul patogen al salmonelozei în materiile fecale, masele vomitive, sânge, lichidul de spălătură gastrică, urină
Genul Shigella S. dysenteriae, S.flexneri, S. boydii, S. Sonnei	Agentul patogen al dizenteriei în materiile fecale, lichidul de spălătură intestinală, materialul necroptic
Genul Vibrio V. cholerae, V. El Tor	Agentul patogen al holerei în materiile fecale, masele vomitive, materialul necroptic
V. fluvialis, V. Alginollyticus V.parahaemolyticus	Agentul patogen al gastroenteritelor în materiile fecale, masele vomitive
Genul Yersinia Yersinia enterocolitica	Agentul patogen al iersiniozei în materiile fecale, sânge, masele vomitive, bilă, urină
Yersinia pseudotuberculosis	Agentul patogen al pseudotuberculozei în materiile fecale, sânge, masele vomitive, bilă, urină mucozităţii vestibului farigian, materialul necroptic
Yersinia pestis	Agentul patogen al pestei în secreţiile din ulceraţii, punctatele din buboane, spută, sânge, materiile fecale, bioptate
Alte microorganisme	

Microorganismele condiţionat patogene, aerobe şi facultativ aerobe, agenţii maladiilor septico-purulente şi oportuniste în biomateriale.

Biolichidele (sângele, sângele ombilical, exsudatele, transudatele; lichidul pericardial, pleural, sinovial, cefalorahidian, bila, urina, secretul prostatic); sputa, lichidul de spălătură bronho-alveolară, supuraţiile din abscese, plăgi, cavităţile sinuzale şi leziuni de altă localizare.

Secreţii oculare, nazale, faringiene, rinofaringiene, auriculare, din plăgile deschise, conţinutul veziculelor.

Secreţiile organelor genitale (vaginale, cervicale, uterine, uretrale).

Materiile fecale, lichidele de spălătură gastrică şi intestinală, masele vomitive.

Bioptatele (vegetaţiile valvulare, oasele, ţesutul cerebral, corneea, corpul vitros şi alte ţesuturi), bioptatele prin puncţie, punctatele (absceselor, ganglionilor limfatici).

Materialul necroptic.

Alte materiale.

Genul Acinetobacter
A. baumannii
A. calcoaceticus
A. Iwoffii
Acinetobacter spp.
Genul Actinobacillus
A.actinomycetemcomitans
Actinobacillus spp
Genul Aerococcus
A. viridans
Aerococcus spp.
Genul Aeromonas
A. caviae
A. hydrophila
Aeromonas spp
Genul Afipia
A. felis
Afipia spp
Genul Agrobacterium
Genul Alcaligenes
A. faecalis
A. piehaudii
A. xylosoxidans
Alcaligenes spp
Genul Bacillus
B. cereus
B. laternosporus
B. megaterium
B. pumilis
B. sphaerucus
B. subtilis
B. thuringiensis
B.alvei
Bacillus spp
Genul Bartonella
B.bacilliformis
Bartonella spp
Genul Bergeyella
B. zoonelicum
Genul Bordetella
A. bronchiseptica
Genul Brevundimonas
B.vesicularis
B.diminuta
Genul Budvicia
Genul Burkeholderia
B.cepacia
Genul Capnocytophaga
A. ochracea
Genul Cardiobacterium
C. hominis
Genul Cedecea
C.davisae
C.neteri
Cedecea spp
Genul Citrobacter
C.amalonaticus
C. freundii
C.koseri
Citrobacter spp
Genul Chromobacterium
C. violaceum
Genul Chryseobacterium
Ch. meningosepticum
Chryseobacterium spp
Genul Chriseomonas
C.luteola
Genul Corynebacterium
C.jeikeium
C. minutissimum
C. pseudodiphtheriticum
C. pseudotuberculosis
C. renale
C. striatum
C. ulcerans
C. urealyticum
C.xerosis
Corynebacterium spp
Genul Escherichia
E.coli
E.hermanii
E.vulnaris
E.fergussoni
Genul Edwardsiella
E.hoshinae
E.ictaluri
E.tarda
Edwardsiella spp
Genul Eikenella
E. corrodens
Genul Empelobacter
E. brevis
Genul Enterobacter
E. aerogenes
E.aglomerans
E.asburiae
E.cloacae
E.gergoviae
E.sacazakii
E.taulorae
Enterobacter spp
Genul Enterococcus
E.avium
E.casseliflavus
E. durans
E.faecalis
E.faecum
E.hirae
E.raffinosus
E.solitarius
Enterococcus spp
Genul Erwinia
Genul Erysipelothrix
E.rhusiopathiae
Genul Ewingella
Genul Flavimonas
A. oryziihabitans
Genul Flavobacterium
F. mizutaii
Flavobacterium spp

Genul Gardenerella
G. vaginalis
Gardenerella spp
Genul Hafnia
H. alvei
Genul Haemophilus
H. algyptus
H.aprophilus
H. influenzae ((tulpini acapsulate)
H. haemolyticus
H. parainfluenzae
H. parahaemolyticus
H. paraprohilus
Haemophilus spp
Helicobacter pylori
Genul Kingella
K. kingae
K. denitrificans
Kingella spp
Genul Klebsiella
K.pneumoniae
K.oxytoca
K.ozaenae
K.rhinoscleromatis
Klebsiella spp
Genul Kluyvera
K.ascorbata
K.creyoerescens
Kluyvera spp
Genul Lactobacilus
Genul Leclercia
L. adecarboxilata
Genul Leminorella
Genul Leuconostoc
Genul Listeria
Genul Micrococcus
M. kristinae
M. luteus
M.roseus
Micrococcus spp
Genul Moraxella
Subgenul Moraxella
M(m) bovis
M(m) lacunata
M(m) nonliquefaciens
M(m) osloensis
M(m) phenylpyruvica
Subgenul Branhamella
M. (B) catarralis
M. (B) caviae
M. (B) cuniculi
M. (B) ovis
Moraxella spp
Genul Morganella
M. morganii
Genul Moellerella
Genul Mycoplasma
M. arthritidis
M. fermentans
M. genitalium
M. hominis
M. pneumoniae
Mycoplasma spp
Genul Myroides ***
M. odoratus
Myroides spp
Genul Neisseria
N.lactamica
N. mucosa
N. sicca
N.subflava
Neisseria spp
Genul Nocardia
N. asteroides
N. brasiliensis
Nocardia spp
Genul Obesumbacterium
0. proteus gr-2
Genul Ochrobactrum
0. anthropi
Genul Oligella
0. urethralis
0. ureolytica
Oligella spp
Genul Pantoea
P. agglomerans
Pantoea spp
Genul Pasteurella
P. aerogenes
P. haemolytyca
P. multocida
Pasteurella spp
Genul Plesiomonas
P. shigelloides
Genul Proteus
P. mirabilis
P. vulgaris
P.penneri
Proteus spp
Genul Providencia
P. alcalifaciens
P. rettgeri
P. rustigianii
P. stuartii
Providencia spp
Genul Pseudomonas
P.aeruginosa
P.alcaligenes
P. fluorescens
P. pseudoalcaligens
P. putida
P. stutzeri
Pseudomonas spp
Genul Rahnella
Genul Ralstonia
R. rickettsii
Genul Serratia
S. marcescens
S. liquefaciens
S. rubidiae
Serratia spp
Genul Shewanella
Sh. putrefaciens
Genul Sphingobacterium
S. multivorum
Sphingobacterium spp
Genul Sphingomonas
S. paucimobilis
Genul Staphylococcus
S. aureus
S. auricularis
S. capitis
S. conhnii
S. epidermidis
S. haemolyticus
S. hominis
S. intermedius
S. saprophyticus
S. schleiferi
S. simulans
S. warneri
S. xylosus
Staphylococcus spp
Genul Stomatococcus
S. mucilaginosus
Genul Streptococcus
S. acidominimus
S. agalactiae
S. anginosus (grupa)
S. bovis
S.canis
S.equi
S. equinus

S. mitis (grupa)
S. mutans (grupa)
S. oraralis
S. pneumoniae
S. pyogenes
S. salivarius (grupa)
S. sanguis (grupa)
S.uberis
S. vestibulsris
Streptococcus spp
Genul Suttonella
S. indologenes
Genul Tatumella
T. ptyseos
Genul Vibrio
V. alginolyticus
V. damsella
V. vulnificus
Vibrio spp
Genul Weeksella
W. virosa
Genul Yemella
Y. morbillorum
Y. haemolysans
Yemella spp
Genul Yokenella
Y. regenburgei
Xanthomonas
X. maltophilia
Xanthomonas spp

Microorganismele condiţionat-patogene anaerobe obligate – agenţii patogenici al maladiilor septico-purulente şi oportuniste în biomaterialele:

Punctatele din abscese, cavităţi închise, bioptatele ţesuturilor, sânge, lichidul pleural şi alte materiale

Genul Acidaminococcus
A. fermentans
Genul Atopobium
A. parvulum
Genul Bacteroides
A. fragilis
B. thetaiotaomicron
B.vulgatus
Genul Bifidobacterium
B.adolecentis
A. kongini
Bifidobacterium spp
Genul Clostridium
C.difficile
C. novyi
C.septicum
C. histolyticum
C.sordelli
A. sporogenes
Clostridium spp
Genul Dialister
A. pneumosintes
Genul Dichelobacter
D.nodosum
Genul Fusobacterium
F. necrophoronum
F. nucleatum
F.varium
Fusobacterium spp
Genul Eubacterium
A. lentum
Eubacterium spp
Genul Lactobacillus
L. acidophyli
Lactobacillus spp
Genul Leptotrichia
L. buccalis
Genul Megasphera
Genul Mitsuokella
Genul Mobiluncus
M. curtisii
M. mulieris
Genul Peptococcus
P. niger
Genul Peptostreptococcus
P. magnus
P. micros
P. anaerobius
Genul Porphyromonas
P. assacharolytica
P. endodontalis
P. gingivalis
Genul Prevotella
P. bivia
P. melaninogenica
P. ovalis
Prevotella spp
Genul Propionibacterium
P. acnes
P. avidum
P. freudenreichii
P. granulosum
P. propionicum
Propionibacterium spp
Genul Pseudoramibacter
P. alactolyticus
Genul Ruminococcus
R. hansenii
R. productus
Ruminococcus spp
Genul Sarcina
S.ventriculi
Genul Tissierella
Genul Veillonella
V. atipica
V. dispar
V. parvula
Genul Wolinella
W. recta
Alte tipuri de microorganisme obligat anaerobe

8.1.3 Identificarea microoganismelor

Echerichia coli Corynebacterium Diphtheriae Clostridium botulinum Clostridium dificile Clostridium perfringens Clostridium tetani	Serogrupe Fagotiparea, determinarea toxinei, biotipurilor. Determinarea toxinei şi tipurilor ABCDEF. Determinarea serotipurilor ABC şi al. Determinarea serotipurilor ABCDE. Determinarea anatoxinei.
Haemophilus influenzae	Serotipurile a, b, c, d, e, f, biotipurile după Kilian.
Klebsiella	Serogrupele.
Legionella pneumoniae	Serogrupele.
Leptospira interrogans	Serogrupele, serovarele.
Listeria monocytogenes	Serotipuri.
Neisseria meningitidis	Serogrupele, serotipuri, subtipurile.
Genul Proteus	Serovarele.
Genul Salmonella	Serotipuri, subtipurile. Fagotipurile
Shigella Staphilococcus aureus	Serogrupele, serotipurile. Fagotipurile, determinarea toxinelor.
Streptococcus	Serogrupele după Lensfild.
Streptococcus haemoliticus	Serogrupele după Griffit
St. pneumoniae	Serogrupele, serotipuri
Vibrio cholerae	Serogrupele, subtipuri
Yersinia enterocolitica Yersinia pestis	Serotipurile. Fagotipurile
Yersinia pseudotuberculosis	Serotipurile
Alte microorganisme	-

8.1.3.1 Determinarea sensibilităţii microorganismelor la antibiotice şi alte preparate chimioterapeutice:

-metoda de difuzie în agar;

-metoda de diluţie în bulion sau medii nutritive solide;

-metode accelerate (automatizate);

8.1.3.2. Determinarea concentraţiei antibioticelor în lichidele biologice (sânge, urină şi alte materiale).

8.1.3.3. Determinarea sensibilităţii microorganismelor la bacteriofag.

8.1.4 Proba biologică

Bacillus antracis Borrelia recurrentis Genul Brucella Clostridium botulinum A. Perfringens C. tetani Francisella tularensis Leptospira interrogans	Listeria monocitogenes Mycobacterium tuberculosis Pseudomonas mallei Pseudomonas pseudomallei Genul Rickettsia Streptococcus pneumoniae Yersinia pestis Alte microorganisme

8.1.5 Cercetări imunoserologice

(Determinarea antigenilor şi anticorpilor în serul sanguin, plasma sanguină şi alt material biologic).

Bacillus antracis	Antigen termostabil. Anticorpi.	Reacţia de termoprecipitare Ascoli. RHAP,RIF
Bacteroides fragilis	Antigen.	RIF
Bordetella parapertussis	Antigen.	RIF
Bordetella pertussis	Antigen. Anticorpi.	RIF RA RFC ELISA RIF
Borrelia burgdorferi	Anticorpi. Anticorpi IgG IgM	RIF EIA IB RIF EIA IB
Genul Brucella	Antigen. Anticorpi.	RA RAHA RHAI COA ELISA RA LA RHAI RFC RIF ELISA
B. abortus	Anticorpi. Anticorpi IgM, IgG, IgA.	LA RA RFC ELISA
B. canis	Anticorpi. Anticorpi IgM, IgG	
B. melitensis	Anticorpi.	RA LA ELISA
B. suis	Anticorpi.	RA LA ELISA
Genul Chlamydia	Antigen. Anticorpi. Anticorpi IgM	RIF ELISA RIF ELISA RIF
C. pneumoniae	Anticorpi. Anticorpi IgA IgM	RLC RIF RIF
C. psittaci	Antigen. Anticorpi. Anticorpi IgA IgM IgG	RIF ELISA RLC RIF RIF
C. trachomatis	Antigen. Anticorpi. Anticorpi IgA IgM IgG	RIF ELISA RLC RIF RIF
Clostridium difficile	Toxina A Toxina B Toxina A+B	ELISA ELISA ELISA
Clostridium tetani	Anticorpi IgG	ELISA
Corynebacterium diphteriae	Anticorpi.	RHAP ELISA
Coxiella burnetii	Anticorpi.	RA RFC RHAP ELISA RIF
Genul Ehrlichia	Anticorpi. Anticorpi IgG IgM	ELISA RIF ELISA
Fransiella tularensis	Antigen. Anticorpi.	RIF ELISA RA RHAP RIF ELISA
Haemophilus influenzae	Antigen. Anticorpi. Anticorpi IgG IgM	RIF RA LA COA ELISA RHAP RIA ELISA RIA
Helicobacter pylori	Anticorpi. Anticorpi IgA IgG IgM	LA RIF ELISA ELISA
Genul Legionella	Anticorpi.	RIF
L. pneumophila	Antigen. Anticorpi.	LA RIA RIF ELISA RIF
Leptospira interrogans	Antigen. Anticorpi.	RIF RIHA

Mycoplasma pneumoniae	Antigen. Anticorpi. Anticorpi IgG IgM	RHAP RAHA ELISA RLC RHAP RIF ELISA
Mycoplasma hominis	Antigen. Anticorpi.	RP RAHA RHAP RIF RHAP RAHA RIF ELISA
Mycoplasma (ureaplasma urealiticum)	Antigen. Anticorpi.	RP RAHA RHAP RIF RLC RAHA RIF ELISA
Neisseria gonorroeae	Antigen. Anticorpi.	LA RP RIF ELISA RLC
Neisseria meningitidis	Antigen Antigen A Antigen B Antigen C Antigen W 135 Antigen Y Anticorpi.	RA LA COA RP EILSA RA LA COA RP EILSA RA LA RA COA RP ELISA LA RA RP ELISA COA RA RP ELISA RLC
Pseudomonas pseudomallei	Anticorpi.	RLC
Genul Rickettsia	Anticorpi.	R.Weil-Felix I0x2 RIF RHA ELISA
R. conorii	Antigen. Anticorpi.	RIF RLC RHAI RIF ELISA
R. provazeki	Antigen. Anticorpi.	RIF RLC RHAI RIF R.Weil-Felix 0x19
R. rickettsii	Anticorpi. Anticorpi IgG IgM	RIF ELISA RIF ELISA
R. typhi	Anticorpi. Anticorpi IgG IgM	LA RIF ELISA RIF ELISA
R. tsutsugamuchi	Anticorpi.	RLC R.Weil-Felix 0xK RIF ELISA
Salmonella enteritica	Antigen. Anticorpi.	RIF RHAP
S. typhi	Antigen. Anticorpi.	RA LA RFC RHAP COA ELISA RA RHAP
S. paratyphi A	Anticorpi.	RA
Genul Shigella	Antigen. Anticorpi.	RLC RHAP RAHA ELISA RHAP RIF
S. boudii	Anticorpi.	RLC
S. dysenteriae	Anticorpi.	RLC
S. flexneri	Anticorpi.	RLC
S. sonnei	Anticorpi.	RLC
Genul Staphylococcus	Anticorpi către acidul teihoic. Anticorpi către antigenii genospecifici.	RHAP ELISA RHAP ELISA
Genul Streptococcus	Antigenile de grupă	LA RP
S. agalactiae	Antigen.	LA RIF RP
S.pyogenes	Antigen.	LA RA RIF ELISA

Treponema pallidum	Anticorpi.	LA RFC RIF RP Reacția de imobilizare a treponemei palide (RIT); Reacția de precipitare Kana; Reacția citocolică Zax-Vitebski; Reacția Kolmer;Proba de floculare; Alte metode.
Vibrio cholerae	Antigen. Anticorpi. Anticorpi vibriocidici.	RIF RHAP RA RHAP RNAC ELISA RIF
Yersinia enterocolitica	Anticorpi Anticorpi IgA IgG IgM	RA RHAP ELISA
Yersinia pestis	Antigen. Anticorpi.	RIF RHAI ELISA RP pe plăci standarde RHAP ELISA
Yersinia pseudotuberculosis	Anticorpi.	RA RHAP

8.1.6. Metodele de cercetare în biologia moleculară.
(Metodele de hibridizare ADN și ARN, PCR)

Borrelia Burgdorferi Haemophilus influenzae Genul Brucella Genul Campylobacter C.jejuni C. lari C. coli Chlamydia pneumonia Chlamydia trachomatis Gardenerella vaginalis Haemophilus influenzae Genul Legionella	Listeria monocitogenes Genul Mycobacterium Mycobacterium tuberculosis Neisseria gonorroeae Neisseria meningitidis Ricketsia prowazekii Ricketsia ricketsii Staphilococcus aureus Streptococcus agalactiae Streptococcus pyogenes A. Alte microorganisme

* - În nomenclator sunt incluse microorganismele care se întâlnesc cel mai frecvent în practica clinică și care au importanță epidemiologică.

** - Denumirea materialului clinic folosit în cercetările microscopice vezi compartimentul 8.1.2. Cercetările bacteriologice ale microorganismelor.

*** - Reprezentanții microflorei normale.

8.2 Virusologia

8.2.1. Cercetări la microscop

Microscopia optică (depistarea acțiunii citopatice specifice ale virusurilor, corpurilor de incluziune).

Adenovirus Citomegalovirus Herpes simplex virus Herpes zoster virus Hepatitis B virus Measles virus	Rabies virus Respiratory syncytial virus Variola virus Vesiculovirus Alte virusuri

8.2.2 Microscopia imunoelectronică (depistarea virusurilor în celulele țesuturilor, organelor, lichidele biologice)

Adenovirus	Influenza virus B
Aphtovirus	Influenza virus C
Astrovirus	Kocksaki grupa A
Calicivirus	Kocksaki grupa B
Citomegalovirus	Norwalk virus
Coronavirus	Papilloma virus
Echo	Parvovirus tulpina 19
Enterovirus tipurile 68 – 72	Machupo virus
Epstein Barr	Lassa virus
Hepatitis A	Marburg virus
Hepatitis B	Junin virus
Hepatitis D	Ebola virus
Herpes simplex genitalis	Polyovirus
Herpes simplex labialis	Rhabies virus
Herpes zoster	Rotavirus
Herpesvirus tip 6 (HB_{Lh}-HB_{v6})	Vaccina virus
Herpesvirus tip 7	Varicella virus
Herpesvirus simiae B	Variola maior
Influenza virus A	

8.2.3. Cercetări virusologice

8.2.3.1. Cultivarea și izolarea virusurilor

Cultivarea în embrionii de găină, fibroblaști.

Flavivirus	Virusul parotitei epidemice
Virusul febrei galbene	Rabies virus
Herpes simplex virus	Varicella zoster virus
Influenza virus A	Variola virus
Influenza virus B	Vesiculovirus
Influenza virus C	Alte virusuri
Paramyxovirus	

Cultivarea pe animale de laborator.

Arenavirus	Flavivirus
Bunyavirus	Virusul febrei flave
Coxsackievirus A	Virusul febrei hemoragice Omsk
Dengue virus	Marburg virus
Hepatitis A virus	Ebola virus
Herpes simplex virus 1, 11	Varicella zoster virus
Filovirus	Alte virusuri

Cultivarea virusurilor în cultura de celule tisulare.

Adenovirus Alphavirus Citomegalovirus Coxsakievirus Dengue virus ECHO virus • Enterovirus 68 – 71 Flavivirus Virusul febrei flave Virusul febrei hemoragice Omsk Herpes simplex virus 1,11 H1V Influenza virus A	Influenza virus B Influenza virus C Measles virus NUMPS virus Parainfluenza virus Poliovirus Respiratory syncytial virus Rubella virus Varicella zoster virus Virusul febrei hemoragice cu sindrom renal Alte virusuri.

8.2.3.2. Identificarea (tipizarea)

Adenovirus	RLC RIHA
Alphavirus	RN RFC RIHA
Bunyavirus	RLC RIHA RHAP
Coxsackievirus	RN RP RFC RIHA
ECHOvirus	RN RP RFC RIHA
Enterovirus	RN RIHA RFC RP
Flavivirus Virusul febrei flave Virusul encefalitei de căpușă Virusul encefalitei japoneze Virusul febrei hemoragice Omsk	 RN RIHA RN RIHA RN RIHA RN RFC RIHA
Herpes simplex virus	RN RIF
Influenza virus A Influenza virus B Influenza virus C	RIHA RIHA RIHA
Measles virus	RIHA RIF RN
Parainfluenza virus	RIHA RFC
Paramyxovirus	RIF RT RFC RIHA
Poliovirus	RN RP RFC RIHA
Respiratory syncytial virus Rotavirus Rubella virus	RIF RFC RN RIHA testul de interferență
Varicella zoster virus	ID
Variola virus	RIHA
Alte vurusuri	

8.2.3.3 Cercetări imunoserologice (determinarea antigenilor şi anticorpilor în serul sanguin, plasma sanguină şi alt material biologic)

ADENOVIRUS	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RIF RN în cultura de celule RLC RIHA
APHTOVIRUS	Anticorpi	RN RFC
ALPHAVIRUS		
Virusul encefalitei americane a cailor	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgG IgM	RIF ELISA RN RFC RIHA RIF RIF ELISA
Virusul encefalomielitei venesuele a cailor	Antigeni	RIF
Bunyavirus	Anticorpi	RN RFC RIHA
Coronavirus Coxsackievirus Cytomegalovirus	Antigeni Anticorpi Anticorpi Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF RLC RIHA RN în culturile de organe RN RFC RIHA RP RIF ELISA RIF RFC RIA RP RHAI LA RIF ELISA
Dengue virus	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RHAI RFC RN
Ebola virus	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RN RFC RN RFC RIF
ECHO virus	Anticorpi	RN RFC RIHA RP
Enterovirus (70-71)	Anticorpi	RN RIA
Epstein - Barr virus	Anticorpi IgA IgM IgG	RIF ELISA
Hepatitis A virus	Anticorpi Anticorpi IgG IgM	ELISA RIA ELISA
Hepatitis B virus	Antigenii HBs antigen HBe antigen AT IgM IgG anti-HBeAg AT IgM IgG anti-HbcAg AT IgM IgG anti HbsAg	ELISA RIA ELISA RIA ELISA RIA ELISA RIA ELISA RIA RP RFC RHAP ELISA RIA
Hepatitis C virus	Anticorpi	ELISA
Hepatitis D virus	Antigeni Anticorpi	ELISA RIF RIA ELISA
Hepatitis E virus	Anticorpi	ELISA
Herpes genitalis	Anticorpi	ELISA RN RFC
Flavivirus Virusul febrei flave	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF ELISA LA RN RFC RIHA RIF ELISA
Virusurile encefalitei de căpuşă (rusesc, din orienul depărtat şi europa centrală)	Anticorpi	RLC RN RIHA ELISA RIF
Virusul febrei hemoragice Omsk	Anticorpi	RLC RIHA

Herpes simplex virus 1	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM Anticorpi IgG	RIF ELISA LA RFC ELISA RIF ELISA ELISA
HIV 1	Anticorpi	ELISA
HIV2	Anticorpi	ELISA
Influenza virus A	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RIHA RFC ELISA
Influenza virus B	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RIHA RFC ELISA
Influenza virus C	Antigeni Anticorpi	RIF RLC
Junin virus	Anticorpi	ELISA
La crosse virus	Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF ELISA RIF
Lassa virus	Antigeni Anticorpi IgM IgG	ELISA RIF ELISA
Lymphocytic choriomeningitis virus	Antigeni Anticorpi IgM IgG	RLC RIF RHAI RIF
Marburg virus	Antigeni Anticorpi	ELISA RIF RN RFC RIF
Measles virus	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF RLC RIHA RAI ELISA
Nairovirus	Anticorpi	RIF RFC ELISA RIA
Virusul febrei hemoragice din Crimeea	Anticorpi	
NUMPS virus	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF RFC RN RIHA RIF RFC RIHA ELISA RIF
Orbivirus Virusul febrei de căpușă Colorado și febrei Kemerovo și Lipovnik	Anticorpi	
Papilloma virus	Anticorpi	ELISA
Parainfluenza virus 1 2 3	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RLC RIHA RN în cultura de celule
Parvovirus B-19	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF ELISARFC RN ELISA
Poliovirus 1 2 3	Anticorpi	RN RFC RP RIHA
Rabies virus	Antigeni Anticorpi	RIF La persoanele vaccinate ELISA RFC RIF RIA RN
Reovirus	Anticorpi	RLC RN
Respiratory syncytial virus	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF ELISA RLC ELISA RIF RN RIF

Rotavirus	Antigeni Anticorpi	LA RHAI RFC ELISA COA RIF RFC RN
Rubella virus	Anticorpi Anticorpi IgM IgG Anticorpi IgM	ELISA RIHA LA ELISA ELISA RIA RIF
Rubeola virus	Antigeni Anticorpi IgG Anticorpi IgM	RIF RFC ELISA ELISA RIF
Varicella zoster virus	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF LA RFC RIF ELISA
Vesiculovirus	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RIA

8.2.4 Metodele de biologie moleculară de identificare a virusurilor

Adenovirus	PCR	HTLV	PCR
Astrovirus	PCR	Flavivirus	PCR
Citomegalovirus	PCR	Kocksaki grupele A şi B	PCR
Denge virus	PCR	NUMPS virus	PCR
Dependovirus	PCR	Norwalk virus	PCR
Genul Enterovirus	PCR	Papilloma virus	PCR
Epstein Barr virus	PCR	Genul Parvovirus	PCR
Genul Hantavirus	PCR	Rhinovirus	PCR
Hepatitis A (HAV)	PCR	Genul Rotavirus	PCR
Hepatitis B (HBV)	PCR	Rubeola virus	PCR
Hepatitis D (HDV)	PCR	Rubivirus	PCR
Hepatitis C (HCV)	PCR	Saint Louis encephalitis virus	PCR
Herpes simplex virus	PCR	Varicella virus	PCR
HIV I	PCR		
HIV2	PCR		

8.3 MICOLOGIA

8.3.1 Cercetări macroscopice

Determinarea fungilor în preparatele native vizual, cu lupa , cu lampa Wood.

Genul Malassezia (Pityrosporum) - solzii de piele, stratul cornos al epidermisului.
Genul Microsporum - părul
Genul Piedraia - părul
Genul Trichosporon - părul

8.3.2. Cercetările la microscop

8.3.2.1. Depistarea microorganismelor în probele native de material clinic.

Levuri

Genul Candida - raclatele macerațiilor epidermale, erupțiilor, plăcile de unghii, raclatele mucoasei cavității bucale, sputa, lichidul cefalorahidian, bila, sucul prostatic, urina, punctatele din cavitățile închise, sercrețiile fistulelor.

Genul Cryptococcus - lichidul cefalorahidian, sputa, urina, puroi (în picătura de tuş indian).

Genul Geotrichum - raclatele epidermale, erupțiilor, plăcile de unghii, raclatele mucoasei cavității bucale, sputa, urina.

Malassezia Genul (Pityrosporum) - raclatele dermale.

Genul Rhodotorula - raclatele dermale, sputa, lichidul cefalorahidian, urina (în picătura de tuș indian).

Saccharomyces cerevisiae - raclatele dermale, puroi.

Genul Trichosporon - părul.

Fungii miceliali

Dermatofiții - raclatele dermale, plăcile de unghii

Feohifomicetele - raclatele dermale, plăcile de unghii, sputa, puroi, punctatele din cavitățile închise.

Hialohifomicetele - raclatele dermale, plăcile de unghii, sputa, puroi, punctatele din cavitățile închise.

Genul Aspergillus - sputa, puroi, punctatele din cavitățile închise.

Genul Penicillium - sputa.

Ascomicetele.

Piedraia hortai - părul.

Zigomicetele - raclatele dermale, sputa, puroi, secrețiile din sinusurile nazale.

Fungi dimorfi

Blastomyces dermatitidis - secrețiile din papule, ulcerații, sputa, secrețiile fistulelor, urina.

Coccidioides immitis - sputa, lichidul cefalorahidian, secrețiile fistulelor, conținutul abceselor.

Loboa loboi - secrețiile ulcerațiilor epidermale, exsudatelor.

Paracoccidioides brasiliensis - secrețiile ulcerațiilor epidermale, mucoaselor, puroi, sputa.

Sporothrix schenckii - secrețiile ulcerațiilor epidermale, mucoaselor, puroi, sputa..

Fungi patogeni neclasificați

Rhinosporidium seeberi - secrețiile focarelor în formă de polip.

8.3.2.2 **Depistarea microorganismelor în preparatele colorate

Genul Aspergillus	Hematoxilin-eozină, după Van-Gizon, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Șabadaș), după Gridly, Gomori-Grokott, portocaliu de acridină, cu anticorpi fluorescenți.
Blastomyces dermatitidis	Hematoxilin-eozină, după Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Șabadaș), după Gridly, Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină, anticorpi fluorescenți, albastru de alcian.
Genul Candida	Cu soluția Lugol, hematoxilin-eozină, după Van-Gizon, Gram, Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss-McManus, după Șabadaș), după Gridly, Romanovski-Giemza, Rait, Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină, anticorpi fluorescenți.
Chrysosporium parvum var.crescens	Hematoxilin-eozină, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss-McManus, după Șabadaș), după Gridly, Gomori-Grokott.
Coccidioides immultis	Hematoxilin-eozină, după Van-Gizon, Gram, Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Șabadaș), după Gridly, Romanovski-Giemza, Rait, Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină, anticorpi fluorescenți.

Genul Cryptococcus	Hematoxilin-eozină, după Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş), după Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină, anticorpi fluorescenţi, cu mucicarmină după Meyer.
Epidermophyton floccosum	Anticorpi fluorescenţi.
Genul Fusarium	Anticorpi fluorescenţi.
Genul Geotrichum	Hematoxilin-eozină, după Gram, Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş), după Gomori-Grokott.
Histoplasma capsulatum	Hematoxilin-eozină, după Van-Gizon, Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş), după Griedly, Bauer, Romanovski-Giemza, Rait, Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină, anticorpi fluorescenţi.
Loboa loboi	Hematoxilin-eozină, după Griedly, Gomori.Grokott.
Genul Malassezia	Albastru de metilen, hematoxilin-eozină, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş).
Genul Microsporum	Anticorpi fluorescenţi.
Paracoccidioides brasiliensis	Hematoxilin-eozină, după Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş), după Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină.
Penicillium mameftei	Hematoxilin-eozină, Romanovski-Giemza, Gomori-Grokott.
Pneumocystis carinii	După Bauer, Gomori-Grokott.
Pseudallescheria boydii	Anticorpi fluorescenţi.
Rhinosporidium seeberi	Hematoxilin-eozină, după Van-Gizon, Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş), după Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină, cu mucicarmină după Meyer.
Scopulariopsis brevicaulis	Anticorpi fluorescenţi.
Sporothrix schenckii	Hematoxilin-eozină, după Gram-Veigert, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş), după Romanovski-Giemza, Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină.
Genul Trichophyton	Anticorpi fluorescenţi.
Hialohifomicetele	Hematoxilin-eozină, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss-McManus, după Şabadaş), după Griedly, Gomori-Grokott.
Dermatofiţii	Albastru de metilen, hematoxilin-eozină, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss- McManus, după Şabadaş).
Zigomicetele	Hematoxilin-eozină, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss-McManus, după Şabadaş), după Romanovski-Giemza, Gomori-Grokott.
Pheohifomicetele	Hematoxilin-eozină, PAS (în diferite modificări: după Hojkiss-McManus, după Şabadaş), după Griedly, Gomori-Grokott, cu portocaliu de acridină.

8.3.3. Cercetările culturale și biochimice

8.3.3.1. Levuri

Genul Candida – raclatele macerațiilor epidermale, plăcile de unghii, raclatele mucoasei cavității bucale, sputa, sângele, lichidul cefalorahidian, bila, secrețiile vaginale, uretrale, secretul prostatic, vârful sondei "a demeure", urina, materiile fecale, punctatele din cavitățile închise, secrețiile din fistule, bioptatele țesuturilor, organelor.

C. albicans (C. stellatoidea)*	C. lusitaniae
C. ciferrii	C. maltosa
C. dubliniensis	C. norvegensis
C. famata	C.parapsilosis*
C. glabrata*	C.pelliculosa
C. guillennondii*	C. sojae
C. haemulonii	A. tropicalis (C. paratropicalis)*
C. kefyr (C. pseudotropicalis)*	C.viswanathii
C. krusei	C. zeylanoides

Cryptococcus - lichidul cefalorahidian, sângele, sputa, urina, puroi, bioptatele țesuturilor, organelor.

C.albidus C.laurentii C. neoformans var. gattii*	C. neoformans var. neoformans*

Genul Geotrichum - raclatele epidermale, plăcile de unghii, raclatele mucoasei cavității bucale, sputa, sângele, secrețiile vaginale, materiile fecale, bioptatele țesuturilor, organelor.

G. candidum*
G. clavatum
G. capitanum

Genul Malasseria (Pityrosporum) - raclatele epidermale, sângele, bioptatele țesuturilor, organelor.

M. furfur*
M. pachidermatis

Genul Rhodotorula - raclatele epidermale, plăcile de unghii, sputa,sângele, lichidul cefalorahidian, bila, lichidul cefalorahidian, urina, materiile fecale.

R. glutinis
R. rubra*

Saccharomyces cerevisiae – raclatele epidermale, sângele, puroi, materiile fecale.

Genul Trichosporon - părul, raclatele epidermale, plăcile de unghii, sângele, bioptatele țesuturilor, organelor.

T. beigelii*
T. cutaneum
T. inkin
T. mucoides

8.3.3.2 Fungi miceliali

8.3.3.2.1 Fungi dermatofiți - solzi epidermali, plăcile de unghii, părul.

Genul Epidermophyton

E.floccosum

Genul Microsporum

M. audouinii* M. ferrugineum* M. canis M. fulvum M. distortum* M. gallinae	M. gypseum* M. nanum* M.persicolor M. praecox M.racemosum M. vanbreuseghemii

Genul Trichophyton

T. ajelloi T. concentricum* T. equinum T. fischeri T.gourvilii T.kanei T. longifusum T. megninii T. mentagrophytes var. erinacei T. mentagrophytes var. interdigitale* T. mentagrophytes var. nodulare	T.raubitschekii T. rubrum* T. shoenleninii T. simii T.soudanense T. tonsurans var. sulphureum T. tonsurans var. tonsuhans subvar. perforans* T. vanbreuseghemii T. verrucosum* T. violaceum* T.yaoundei

8.3.3.2.2 Pheohifomicetele (hifomicetele colorate închis)

Genul Alternaria - epidermisul, stratul subcutanat, unghiile, secrețiile nazofaringiale, aspiratele chisturilor, absceselor, bioptatele țesuturilor, organelor.

A. alternata*
A. chlamydospora
A. dianthicola
A. tenuissima

Genul Cladophialophora - epidermisul, stratul subcutanat, papule, verucile, secrețiile absceselor, bioptatele țesuturilor, organelor.

C.arxii
C.bantiana (Cladosporium bantianum)*
C.boppii
C.carrionii (carrioni)*
C. devriesii (Cladosporium devriesii)

Genul Cladosporium - epidermisul, stratul subcutanat, papule, verucile, cornea, secrețiile sinusurilor nazale, absceselor, bioptatele țesuturilor, organelor.

C.cladosporioides*
C.elatum
C.herbarum
C.oxysporum
C. sphaerospermum

Genul Curvularia - epidermisul, corneea, secrețiile sinusurilor nazale, absceselor, bioptatele țesuturilor, organelor.

C.brachyspora
C.clavata
C.geniculata*

C.lunata*
C.pallescens*
C.senegalensis
C.verruculosa

Genul Cyphellophora - epidermisul, unghiile.
C.laciniata
C.pluriseptata

Dissitimurus exedrus - secrețiile nasofaringiale, bioptatele țesuturilor.

Genul Drechslera - epidermisul, stratul subcutanat, corneea, secrețiile sinusurilor nazale, abceselor, sputa, aspiratele bronșilor, bioptatele țesuturilor, organelor.
D.austualiensis (Bipolaris austualiensis)
D.hawaiiensis (Bipolaris hawaiiensis)*
A. papendorfii (Bipolaris papendorfii)
D. spicifera (Bipolaris spicifera)

Genul Exophiala - sputa, aspiratele bronșilor, secrețiile sinusurilor nazale, absceselor, granulomele dermale, țesut celular subcutanat, papulele, verucile, microabscesele keratolitice, bioptatele țesuturilor, organelor.
E.castellanii
E.dermatitidis (Wangiella dermatitidis)*
E.jeanselmei
var.jeanselmei*
E.jeanselmei
var. lecanii-corni
E.moniliae
E. pisciphila*
E. spinifera (Rhinocladiella spinifera)*

Genul Exserohilum - stratul celular subcutanat, corneea, secrețiile sinusurilor nazale, polipii, bioptatele țesuturilor, organelor.
E.longirostratum
E. meginnisii
E.rostratum*

Genul Fonsecaea - granulomele stratului celular subcutanat, papulele, verucile, secrețiile sinusurilor nazale, microabscesele keratolitice, bioptatele țesuturilor.
F.compacta
F. pedrosoi

Hortae werneckii (Exophiala werneckii) - părul, stratul cornos al epidermisului.

Genul Madurella - granulomele stratului celular subcutanat.
M. mycetomi
M. grisea

Genul Ochroconis - stratul celular subcutanat, abscesele creerului, secrețiile ulcerațiilor, bioptatele țesuturilor, organelor.
O.gallopava (Dactylaria constricta)
O. humicola

Genul Phialophora - granulomele dermale, stratului celular subcutanat, papulele, negii, secrețiile abceselor, ulcerațiilor, microabscesele keratolitice, bioptatele țesuturilor.
P. bubakii
P. parasitica*
P. repens
P. richardsiae
P. verrucosa*

Genul Rhinocladiella - granulomele dermale, ale stratului celular subcutanat, papulele, negii,

corneea, sputa, microabscesele keratolitice, secrețiile abceselor, bioptatele țesuturilor.

R. aquaspersa*

R. atrovirens

Genul Scedosporium - granulomele dermale, stratului celular subcutanat, corneea, sputa, secreția conductului auditiv extern, bioptatele țesuturilor, organelor.

S. apiospermum

S. prolificans

Genul Scytalidium - derma, stratul celular subcutanat, unghiile, corneea.

S. hyalinum

S. dimidiatum

Stenella araguata - părul, stratul cornos al epidermisului.

8.3.3.2.3 Hialohifomicetele (hifomicetele colorate deschis)

Genul Acremonium - derma, granulomele stratului celular subcutanat, corneea, sputa, puroi, abscesele creerului, bioptatele țesuturilor, organelor.

A. alabamense

A. curvulum

A. falciforme*

A. kiliense (Cephalosporium acremonium)*

A. potronii

A. recifei

A. roseogriseum

A. strictum

Arthrographis kalrae - derma, unghiile.

Genul Aspergillus - derma, corneea, granulomele stratului celular subcutanat, secrețiile sinusurilor nazale, conductul auditiv extern, sputa, puroi, materiile fecale, bioptatele țesuturilor, organelor.

A. alliaceus	A. sclerotiorum
A. japonicus	A. conicus
A. amstelodami	A. sydowi
A. nidulans*	A. flavipes
A. caesiellus	A. tamarii
A. niger*	A. flavus*
A. candidus	A. terreus*
A. niveus	A. fumigatus*
A. carneus	A. tetrazonus
A. ochraceus	A. glaucus
A. chevalieri	A. unguis
A. oryzae	A. hollandicus
A. clavato-nanicus	A. ustus
A. restrictus	A. janus
A. clavatus	A. versicolor

Beauveria bassiana - corneea, sputa, aspiratele bronșilor.

Genul Chrysosporium - derma.

C. pannicola

Chrysosporium parvum var. crescens – bioptatele țesuturilor pulmonare.

C. tropicum

Genul Cylindrocarpon - corneea, granulomele țesutului celular subcutanat.

C.cyanescens (Phialophora cyanescens)

C.destructans

C. lichenicola

Genul Fusarium - unghile, derma, țesutul celular subcutanat, corneea, sângele, vârful sondei "a demeure", masele vărsăturilor, materiile fecale, bioptatele țesuturilor, organelor.

F. aquaeductuum	F. sacchari
F. oxysporum*	F. incarnatum
F. chlamydosporum	F. solani*
F. proliferatum	F. moniliforme*
F. dimerum	F. verticillioides

Genul Hormographiella - derma.

H.aspergillata

H. verticillata

Genul Lecythophora - țesutul celular subcutanat, corneea, secrețiile absceselor, bioptatele țesuturilor, organelor.

L. hoffmannii

L. mutabilis

Genul Paecilomyces - derma, țesutul celular subcutanat, corneea, sputa, aspiratul bronșiilor, secrețiile sinusurilor nazale, absceselor, sângele, vârful sondei "a demeure", bioptatele țesuturilor, organelor.

P. crustaceus

P. marquandii*

P. javanicus

P. variotii*

P. lilacinus*

P. viridis

Genul Penicillium - derma, unghiile, corneea, sângele, secrețiile sinusurilor nazale, conductul auditiv extern, abscesele, sputa, aspiratul bronșiilor, raclatele mucoasei tractului digestiv, secrețiile uretrale, bioptatele țesuturilor, organelor.

P. chrysogenum*

P. expansum

P. citrinum*

P. purpurogenum*

P. commune

P. rugulosum

P. decumbens

P. spinulosum

Genul Phialemonium - țesutul celular subcutanat, aspiratul chistului, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.

P. curvatum

P. obovatum

Genul Scopulariopsis - derma, unghiile, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.

S. acremonium

S. asperula

S. brevicaulis*

S. brumptii*

S. flava

S. fusca

S. koningii

Genul Trichoderma - sputa, puroi, bioptatele țesuturilor.

T. viride*

T. koningii

8.3.3.2.4 Celomicetele

Chaetophoma dermo-unguis - unghiile.

Genul Colletotrichum - corneea.

C. coccodes

C. dematium*

C. gloeosporioides

Lasiodiplodia (Botryodiplodia) theobromae - unghiile, stratul celular subcutanat, corneea.

Nattrassia mangiferae (Hendersonula toruloidea) - unghiile, derma, stratul celular subcutanat, corneea.

Genul Phoma - derma, stratul celular subcutanat, corneea, puroi, secrețiile ulcerațiilor.

P. eupyrena

P. glomersta

P. herbarum

P. minutella

P. minutispora

P. oculo-hominis

P. sorghina

Pseudochaetosphaeronema larense - granulomele stratului celular subcutanat.

Genul Pyrenochaeta - unghiile, granulomele stratului celular subcutanat.

P. romeroi

P. mackinnonii

P. unguis-hominis

Sphaeropsis subglobosa - corneea.

8.3.3.2.5 Ascomicetele

Genul Chaetomium - unghiile, derma, stratul celular subcutanat, sputa, secrețiile abceselor, bioptatele țesuturilor, organelor.

C. atrobrunneum

C. funicola

C. globosum*

Gymnoascus dancaliensis - derma, secrețiile conductului auditiv extern.

Leptosphaeria senegalensis - granulomele stratului celular subcutanat.

Myxotrichum deflexum - unghiile.

Neotestudina rosatii - granulomele stratului celular subcutanat.

Piedraia hortai - părul, stratul cornos al epidermisului.

Pseudallescheria boydii - granulomele stratului celular subcutanat, secrețiile sinusurilor nazale, abceselor, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.

8.3.3.2.6 Zigomicetele

Genul Absidia - derma, stratul celular subcutanat, secrețiile sinusurilor nazale, abceselor creerului, sputa, polipii, bioptatele țesuturilor, organelor.

A. corymbifera

A. coerulea

Apophysomyces elegans - bioptatele țesuturilor, organelor.

Chlamydoabsidia padenii - corneea.

Cokeromyces recurvatus - abcesele creerului, raclatele mucoasei tractului digestiv, materiile fecale.

Cunninghamella bertholletiae - sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.

Genul Mucor - derma, stratul celular subcutanat, polipii, secrețiile sinusurilor nazale, abcesele creerului, sputa, raclatele mucoasei tractului digestiv, materiile fecale, bioptatele țesuturilor, organelor.

M. circinelloides

M. hiemalis

M. indicus*
M. racemosus*
M. ramosissimus*
Rhizomucor pussilus - derma, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.
Genul Rhizopus - derma, polipii, secrețiile sinusurilor nazale, raclatele mucoasei tractului digestiv, materiile fecale, bioptatele țesuturilor, organelor.
R. microsporus
var. rhizopodiformis
R. microsporus
var. oligosporus
R. oryzae*
R. stolonifer
Saksenaea vasiformis - derma, stratul celular subcutanat, polipii, secrețiile sinusurilor nazale, abscesele creerului, bioptatele țesuturilor, organelor.
Syntephalastrum racemosum - derma.
Basidiobolus haptosporus - granulomele stratului subcutanat conjunctiv, veziculele, bioptatele țesuturilor.
Conidiobolus incongruus - derma, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.
Delacroixia coronata (Conidiobolus coronatus) - derma, stratul celular subcutanat, veziculele, pustulele, polipii, granulomele, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.

8.3.3.3 Fungi dimorfi

Blastomyces Dermatitidis	Raclatele papulelor, ulcerațiilor, bioptatele mucoasei nazale, bucale, faringeale, sputa, secrețiile fistulelor, secvestrelor oaselor, urina, asripatele absceselor, bioptatele , organelor.
Coccidioides immitis	Sputa, lichidul cefalorahidian, bioptatele focarelor leziunilor dermale, organelor interne, secrețiile fistulelor, absceselor.
Histoplasma capsulatum var. Capsulatum	Sputa, secrețiile ulcerațiilor linguale, faringeale, bioptatele focarelor leziunilor dermale, mucoasei organelor interne, urina, aspitatele măduvii hematogene, lichidelor biologice, ganglionilor limfatici.
Histoplasma Capsulatum var. Duboisi	Bioptatele focarelor leziunilor dermale, aspiratele infiltratelor, absceselor, granulomelor subcutanate, secrețiile fistulelor, secvestrelor oaselor, absceselor țesuturilor moi.
Loboa loboi	Bioptatele ganglionilor dermale, papulelor, verucelor dermale, infiltratelor, ganglionilor limfatici.
Paracoccidioides brasiliensis	Raclatele ulcerațiilor dermale, mucoaselor, puroi, bioptatele ganglionilor limfatici, dermale, viscerelor.
Penicillium – mameffei	Raclatele ulcerațiilor dermale, mucoaselor, sputa, bioptatele țesuturilor, organelor.
Sporothrix - Schenckil	Secrețiile ulcerațiilor dermale, microabsceselor, fistulelor, punctatelor ganglionilor limfatici, bioptatele țesuturilor, organelor.

8.3.3.4 Fungi patogeni neclasificați

Pneumocystis carinii – sputa, aspiratele bronhiale, bioptatele țesuturilor, organelor.
Rhinosporidium seeberi - secrețiile focarelor în formă de polipi, bioptatele polipilor, papilomelor, hiperplaziei mucoaselor, microabsceselor mucoaselor.

8.3.4 Cercetări imunoserologice (Depistarea antigenilor şi anticorpilor în ser/plasma sanguină)

Absidia	Anticorpi	ID ELISA
Aspergillus nidulans Aspergillus flavus Aspergillus fumigatus Aspergillus niger Aspergillus terreus	Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi	RP ID IEF RIFI ELISA RIA RP ID IEF RIFI ELISA RIA RP ID IEF RIFI ELISA RIA RP ID IEF RIFI ELISA RIA RP ID IEF RIFI ELISA RIA
Basidiobolus	Anticorpi	ID ELISA
Blastomyces dermatitidis	Antigen/anticorpi	RLC ID RIF ELISA
Candida albicans Candida guillermondii Candida kefyr Candida krusei Candida lusitaniae Candida parapsilosis Candida tropicalis	Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi	RLC RA RP ID IEF RHAI ELISA RAL RLC RA RP ID IEF RHAI ELISA RAL RLC RA RP ID IEF RHAI ELISA RAL RLC RA RP ID IEF RHAI ELISA RAL
Coccidioides immitis	Antigen/anticorpi	RP ID RHAI RAL RIFI ELISA
Conidiobolus	Anticorpi	ID ELISA
Cryptococcus laurentii Cryptococcus neoformans	Antigen Antigen	RAL RIFI ELISA
Exophiala dermatitdis	Antigen/anticorpi	ID
Fusarium chlamydo-sporum Fusarium dimerum Fusarium moniliforme Fusarium oxysporum Fusarium solani	Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi	IEF IEF IEF IEF IEF
Histoplasma var.capsulatum Histoplasma var.duboisii	Antigen/anticorpi Antigen/anticorpi	RLC ID RIA RIFI ELISA RAL RLC ID RIA RIFI ELISA RAL
Mucor	Anticorpi	ID ELISA
Paracoccidioides brasiliensis	Antigen/anticorpi	ID IF
Penicillium mameffei	Antigen/anticorpi	ID
Pseudallescheria boydii	Antigen/anticorpi	
Rhizopus	Anticorpi	ID ELISA
Sporothrix schenckii	Antigen/anticorpi	ID

8.3.5 Metode de biologie moleculară

Metoda reacţiei de polimerizare în lanţ – PCR

Genul Absidia Genul Acremonium Genul Altemaria Aspergillus flavus A. nidulans A.niger A. terreus Blastomyces dermatitidis Candida albicans C.dubliniensis C. glabrata C. guillermondii C. haemulonii	Genul Curvularia Genul Drechslera Fusarium solani Histoplasma capsulatum var.capsulatum Histoplasma capsulatum var.duboisii Hortaea werneckii (Exophiala werneckii) Genul Lecythophora Malassezia furfur Microsporum canis M. gypseum Mucor indicus Genul Paecilomyces Genul Penicillium

C. kefyr (C. pseudotropicalis) C. krusei C. maltosa C. parapsilosis C. sojae C. viswanathii C. zeylanoides Genul Chaetomium Genul Chrysosporium Cladophialophora carrionii (Cladosporium carrioni) Coccidioides immitis Cryptococcus neoformans	Genul Phoma Pneumocystis carinii Pseudallescheria boydii Rhodotomla rubra Rhizopus oryzae Saccharomyces cerevislae Genul Scopulariopsis Sporothrix schenckii Genul Trichophyton Trichosporon beigelii

8.4 PARAZITOLOGIA

8.4.1 Helminţii

8.4.1.1 Cercetarea macroscopică a materiilor fecalelor

Depistarea cestodelor şi a fragmentelor lor (scolexe, segmente)

Diphyllobotrium latum
Dipylidium caninum
Hymenolepis diminuta - (sub lupă sau mărimea mică a microscopului)
Hymenolepis nana - (sub lupă sau mărimea mică a microscopului
Taenia solium
Taeniarhynchus saginatus
Depistarea formelor matur sexuale ale helminţilor.
Ancylostoma duodenale
Ascaris lumbricoideus
Enterobius vermicularis
Fasciolopsis buski
Macracanthorynchus hirudinaceus
Metagonimus yokogawai
Moniliformis moniliformis
Nanophyetus salmincola schikhobaiwi
Necator americanus

8.4.1.2 Cercetarea la microscop

Depistarea în preparatele biologice a ouălelor, microfilariilor, larvelor.

Ancylostoma braziliense	Ouăle în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor, materiile fecale. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor.
Ancylostoma ceylanicum	Ouăle în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor, materiile fecale. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor.
Ancylostoma duodenale	Larvele în bioptatele dermale, spută. Ouăle în materiile fecale, conţinutul duodenal, lichidul alveolar, aspiratele bronşiilor. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor.
Angiostrongulus cantonensis	Larvele în lichidul cefalorahidian.
Angiostrongulus costaricensis	Larvele în lichidul cefalorahidian, bioptatele peretele intestinului gros. Ouăle în bioptatele peretelui intestinului gros.

Anisakis marina	Larvele în bioptatele mucoasei stomacului şi intestinului gros.
Armillifer Armillatus	Larvele în bioptatele ficatului, plămânilor, peretelui intestinului gros, mezoului, peritoneului.
Ascaris lumbricoideus	Ouăle în materiile fecale. Larvele în spută.
Brugia malayi	Microfilariile în bioptatele ganglionilor limfatici, în sânge.
Capillaria hepatica	Ouăle în bioptatele hepatice.
Capillaria phillippinensis	Larvele în bioptatele mucoasei gastrice şi intestinului gros. Ouăle în materiile fecale.
Clonorchis sinensis	Ouăle în conţinutul duodenal (sedimentul după centrifugarea tuturor porţiilor), în materiile fecale.
Dicrocoelium hospes	Ouăle în materiile fecale.
Dicrocoelium lanceatum (dentriticum)	Ouăle în materiile fecale, conţinutul duodenal.
Dioctophyma renale	Ouăle în urină.
Dipetalonema perstans	Microfilariile în sânge, lichidul cefalorahidian,bioptatele ţesuturilor petroperitoneale ale mezoului.
Dipetalonema streptocerca	Microfilariile în bioptatele dermale.
Diphyllobothrium cordatum Diphyllobothrium Dendriticum Diphyllobothrium giljacicum Diphyllobothrium latum Diphyllobothrium nenzi Diphyllobothrium tungussicum	Ouăle în materiile fecale. Ouăle în materiile fecale. Ouăle în materiile fecale. Ouăle în materiile fecale. Ouăle în materiile fecale. Ouăle în materiile fecale.
Dipylidium caninum	Ouăle în materiile fecale.
Dirofilaria	Larvele în bioptatele ganglionilor subcutanaţi, ţesutului celular subcutanat, fasciilor.
Dirofilaria immitis	Larvele în bioptatele pulmonare
Echinococcus granulosus	Cistele în bioptatele pulmonare, hepatice, peritoneale. Protoscolexele şi capsulele secundare în urină. Scolexele larviale, cârligele lor, membranele chisturilor în spută.
Echinococcus multilocularis	Cistele în bioptatele hepatice, pulmonare.
Echinostoma	Ouăle în materiile fecale.
Enterobius vermicularis	Ouăle în urină, materiile fecale, raclatul perianal, spălăturile perianale, benzile de polietilenă.
Fasciola busci	Ouăle în bioptatele ganglionilor subcutanaţi, ţesutului celular subcutanat, fasciilor, în materiile fecale, conţinutul duodenal.
Fasciola gigantica	Ouăle în materiile fecale, conţinutul duodenal.
Fasciola hepatica	Ouăle în materiile fecale, conţinutul duodenal.
Fasciolopsis busci	Ouăle în materiile fecale.
Gastrodiscoides hominis	Ouăle în materiile fecale.
Heterophyes heterophyes	Ouăle ectopice în bioptatele muşchilor striaţi ai inimii, materiile fecale.
Hymenolepis diminuta	Ouăle în materiile fecale (frotiul mare).
Hymenolepis nana	Ouăle în materiile fecale.
Loa Loa	Microfilariile în bioptatele ganglionilor subcutanaţi, ţesutului celular subcutanat, fascii, în sânge.
Mansonella ozzardi	Microfilariile în bioptatele ţesuturilor retroperitoneale ale mezoului, în sânge.

Mansonella perstans	Microfilariile în sânge.
Mansonella streptocerca	Microfilariile în sânge.
Meningonema peruzzi	Microfilariile în lichidul cefalorahidian.
Metagonomus yokogawai	Ouăle în materiile fecale.
Morerastrongylus	Ouăle în bioptatele parietale ale intestinului gros.
Genul Multiceps	Cenurele în bioptatele creerului, țesuturile ochilor.
Nanophyetus salmincola schikhobaiwi	Frotiul mare.
Necator americanus	Larvele în bioptatele dermale, spută. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronșic. Ouăle în materiile fecale (materiile fecale proaspete, frotiul mare), conținutul duodenal.
Oesogophagostomum	Larvele în bioptatele parietale ale intestinului gros. Ouăle în materiile fecale.
Onchocerca volvulus	Microfilariile în lichidul cefalorahidian, bioptatele ganglionilor subcutanați, țesutul celular subcutanat, fascii, în urină la chimioterapie, în bioptatele dermale și conjunctivei oculare.
Onchocercus Cobga	Microfilariile în bioptatele ganglionilor subcutanați, țesutul celular subcutanat, fascii.
Opistorchis felineus	Ouăle în conținutul duodenal – sedimentul după centrifugarea tuturor porțiunilor, în lichidul de spălătură intestinală, în materiile fecale.
Opistorchis viverrini	Ouăle în raclatul perianal, microscopia emplastului de polietilenă, spălăturilor ariei perianale, în lichidul de spălătură intestinală, materiile fecale.
Paragonimus	Helminții în bioptatele peritoneului, ganglionilor subcutanați, fascii.
Paragonimus africanus	Ouăle în spută.
Paragonimus uterobilateralis	Ouăle în spută.
Paragonimus westermanni	Ouăle în spută, materiile fecale (frotiul mare), în lichidul alveolar, aspiratul bronșiilor. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronșiilor.
Shistosoma haematobium	Ouăle în bioptatele mucoasei și submuscoasei vezicei urinare, mucoasei rectului, în urină.
Shistosoma intercalatum	Ouăle în materiile fecale (frotiul mare), bioptatele parietale ale intestinului gros.
Shistosoma japonicum	Ouăle în materiile fecale (frotiul mare), bioptatele parietale ale intestinului gros, bioptatele hepatice.
Shistosoma mansoni	Ouăle în materiile fecale (frotiul mare), bioptatele parietale ale intestinului gros, bioptatele hepatice, mucoasei rectului, în mucozitatea rectală.
Shistosoma spindale	Cercariile în bioptatele dermale.
Genul Spirometra ***	Larvele în bioptatele ganglionilor subcutanați, țesutul celular subcutanat, fascii.
Strongyloides fuellebomi	Ouăle în materiile fecale.
Strongyloides stercolaris	Larvele în bioptatele dermale, spută, bioptatele mucoasei gastrice și intestinului gros. Larvele rabditoide în conținutul duodenal, materiile fecale. Ouăle în materiile fecale, lichidul alveolar, aspiratul bronșic. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronhial.
Syngamus laryngeus	Ouăle și helminți în spută.

Taenia solium	Cisticerci în bioptatele muşchiului striat cardiac, ganglionii subcutanaţi, ţesutul celular subcutanat, fascii, creerului, şesuturilor ochilor. Ouăle în raclatul perianal, lichidul de spălătură intestinală, materiile fecale. Scolexele în materiile fecale.
Taeniarhynchus saginatus	Ouăle în materiile fecale, raclatul perianal, microscopia pe emplastul adeziv de polietilenă, lichidul de spălătură intestinală. Scolexele în materiile fecale.
Ternidens deminutus	Ouăle în materiile fecale.
Thominx aerophilus	Ouăle în materiile fecale (frotiul mare), spută.
Toxocara canis	Ouăle în lichidul cefalorahidian, lichidul alveolar, aspiratul bronhial. Larvele în bioptatele hepatice, pulmonare, creerului, ţesuturilor ochilor. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor.
Trichinella spiralis	Larvele în bioptatele mucoasei stomacale şi a intestinului gros, bioptatele muşchilor deltoideus, diafragmali. Larvele migrante în lichidul alveolar, aspiratul bronşiilor.
Tnchocephalus trichiurus	Ouăle în materiile fecale (frotiul mare).
Trichostrongylus colimbriformis	Ouăle în materiile fecale, sedimentul după centrifugarea tuturor porţiilor conţinutului duodenal.
Trichostrongylus orientalis	Ouăle în materiile fecale.
Trichostrongylus ostertagia	Ouăle în materiile fecale.
Trichostrongylus scrjabini	Ouăle în materiile fecale.
Trichostrongylus vitrinus	Ouăle în materiile fecale.
Wuchereria bancrofti	Microfilariile în urină în chilurie, bioptatele ganglionilor limfatici, sânge.

Determinarea cantitativă în preparatele biologice a ouălelor, microfilariilor, larvelor.

Ancylostoma duodenale	Ouălelor în materiile fecale
Ascaris lumbricoides	Ouălelor în materiile fecale
Clonorchis sinensis	Ouălelor în materiile fecale
Dicrocoelium lanceatum	Ouălelor în materiile fecale
Fasciola hepatica	Ouălelor în materiile fecale
Fasciolopsis buski	Ouălelor în materiile fecale
Metagonimus yokogawai	Ouălelor în materiile fecale
Nanophyetus salmincola schikhobalowi	Ouălelor în materiile fecale
Opisthorchis felineus	Ouălelor în materiile fecale
Paragonimus westermanni	Ouălelor în materiile fecale
Schistosoma intercalatum	Ouălelor în materiile fecale
Schistosomajaponicum	Ouălelor în materiile fecale
Schistosoma mansoni	Ouălelor în materiile fecale
Trichocephalus trichiurus	Ouălelor în materiile fecale
Schistosoma haematobium	Ouălelor în urină
Brugia malayi	Microfilariilor în sânge
Acanthochelonema (Dipetalonema perstans)	Microfilariilor în sânge
Loa Loa	Microfilariilor în sânge
Mansonella ozzardi	Microfilariilor în sânge
Wuchereria bancrofti	Microfilariilor în sânge
Acanthocheilonema streptocerca	Microfilariilor în sânge
Onchocerca vulvulus	Microfilariilor în sânge
Trichinella spiralis	Larvelor în ţesutul muscular

8.4.1.3 Cercetări culturale

Cultivarea larvelor.

Ancylostoma duodenale - în eprubete pe hârtia de filtru.
Necator americanus - în eprubete pe hârtia de filtru.
Strongyloides stercoralis - prin metoda culturii pe cărbune în cutii Petri, în eprubete pe hârtia de filtru.
Trichostrongulus columbriformis - în eprubete pe hârtia de filtru.

8.4.1.4 Cercetări imunoserologice

(anticorpi în serul, plasma sanguină, lichidul cefalorahidian şi alte lichide biologice).

Ascaris lumbricoides	Anticorpi	RP RFC TFB RHAI ELISA
Cysticercus	Anticorpi Anticorpi IgG	RHAI RIHA ELISA IB ELISA
Brugia malyi	Anticorpi	TFB RHAI ELISA
Echinococcus granulosus	Anticorpi Anticorpi IgM, IgG	RLC RIHA RIF ELISA IB ELISA
Fasciola hepatica	Anticorpi	LARFC ID RIF ELISA IB
Filaria	Anticorpi	TFB THAI ELISA
Onchocerca vulvus	Anticorpi	ELISA
Genul Opisthorchis	Anticorpi	ELISA
Paragonimus westermanni	Anticorpi	RLC RIF ELSIA IB
Genul Schistosoma	Anticorpi	RLC RIHA RIF ELISA IB
Schistosoma japonicum	Anticorpi	RLC RIHA RIF ELISA
Schistosoma mansoni	Anticorpi	RLC RIHA RIF ELISA
Schistosoma haematobium	Anticorpi	RLC RIHA RIF ELISA
Strongyloides stercoralis	Anticorpi Anticorpi IgM, IgG	RLC RHAI ELISA ELISA
Taenia saginata	Anticorpi	ELISA
Taenia solium	Anticorpi	ELISA
Toxocara canis	Anticorpi Anticorpi IgM, IgG	ELISA ELISA
Trichinella spiralis	Anticorpi Anticorpi IgA, IgM	LA TF RIF ELISA ELISA

8.4.2 Protozoare (tipul Protozoa)

8.4.2.1 Cercetări la microscop

8.4.2.1.1 Microscopia optică.

Depistarea microorganismelor în preparatele native.

Genul Acanthamoeba	Trofozoizi şi ciste în LCR, bioptatele dermale, corneei, ţesutului osos, pulmonilor, sputa şi mucozitatea din faringe şi nas.
A.astronyxis	Trofozoizi şi ciste în mucozitatea din faringe şi nas, LCR, ţesut osos.
A.castellanii	Trofozoizi şi ciste în mucozitatea din faringe şi nas, LCR, ţesut osos.
A. culbertsoni	Trofozoizi şi ciste în mucozitatea din faringe şi nas, LCR, ţesut osos.
A.polyphaga	Trofozoizi şi ciste în LCR, ţesut osos.
Balantidium coli	Trofozoizi şi ciste în materiile fecale, aspirate şi raclate din mucoasa intestinului gros, raclatele mărginilor ulceraţiilor.
Chilomastix nesnili	Trofozoizi şi ciste în materiile fecale.

Cryptosporidium parvum	Oociste în materiile fecale, conținutul duodenal, spută, bioptatele intestinale, vezicii biliare și a căilor biliare, pulmonilor.
Cyclospora cayetanensis	Oociste în materiile fecale, conținutul duodenal.
Dientamoeba fragilis	Trofozoizi în materiile fecale.
Endolimax nana	Trofozoizi și ciste, trofozoizi în materiile fecale.
Entamoeba coli	Trofozoizi și ciste în materiile fecale.
Entamoeba gingivalis	Trofozoizi și ciste în mucozitatea din faringe și nas..
Entamoeba hartmanni	Trofozoizi și ciste în materiile fecale.
Entamoeba histolytica	Trofozoizi și ciste în materiile fecale, aspiratele mucozității la rectoromanoscopie, sedimentul lichidului de spălătură intestinală, secrețiilor și raclatelor uretrale, vaginale, cervicale, raclatelor ulcerațiilor perianale, intestinului sigmoidal și rectului, pielii abdomenului, secrețiile abscceselor drenante, exsudatelor, transudatelor.
Giardia lamblia	Trofozoizi și ciste în materiile fecale, conținutul duodenal, lichidul de spălătură intestinală.
Hartmannella	Trofozoizi și ciste în mucozitatea faringială și nazală.
Iodamoeba butschlii	Trofozoizi și ciste în materiile fecale.
Genul Isospora Isospora helli Isospora natalensis	Oociste în materiile fecale, conținutul duodenal. Oociste în materiile fecale, conținutul duodenal. Oociste în materiile fecale, conținutul duodenal.
Naegleria fowlerii	Trofozoizi în LCR
Genul Sarcocystis S. hominis S. suihominis	Sporociste în materiile fecale, bioptatele țesutului muscular din focarele de lezare, focarele din duoden.
Trichomonas hominis	Trofozoizi în materiile fecale.
Trichomonas tenax	Trofozoizi în tartru dentar, dinții carioși, spută.
Trichomonas vaginalis	Trofozoizi în secrețiile uretrale, vaginale, cervicale, secretul prostatic, centrifugatul primei porții de urină.
Genul Trypanosoma T. brucei Specia rhodsiense Specia gambiense T. cruzi	În sânge (picătura groasă, frotiul subțire, picătura strivită), în câmpul întunecat, în LCR, aspiratul ganglionilor limfatici, măduvei hematogene.

Depistarea microorganismelor în preparate colorate*

Genul Acanthamoeba A.astronixis A.casteldanii A.culbertsoni A. polyphaga	Colorația biomaterialului cu coloranți fluorescenți.
Balantidium coli	Colorația cu soluția Lugol, hematoxilin-eozină.
Genul Babesia B.coli B.microti B.argentine B. divergens	Colorația sângelui (picătura groasă, frotiul subțire) Romanovski-Giemza, Rait-Leishman.
Chilomastix mesnili	Colorație cu soluția Lugol.
Cryptosporidium parvum	Colorație cu soluția Lugol, Romanovski-Giemza, Ziehl-Nielsen.

Cyclospora cayetanensis	Colorația Ziehl-Nielsen.
Entamoeba coli	Colorația cu soluția Lugol.
Entamoeba gingivalis	Colorația cu soluția Lugol.
Entamoeba hartmanni	Colorația cu soluția Lugol.
Entamoeba histolytica	Colorația cu soluția Lugol, hematoxilin-eozină.
Giardia lamblia	Colorația cu soluția Lugol, hematoxilin-eozină, Hendenheim.
Iodamoeba bautschlii	Colorația cu soluția Lugol, hematoxilin-eozină.
Genul Leishmania	Colorația (raclatele papulelor, mărginile ulcerațiilor, bioptatele și punctatele măduvii hematogene, ficatului, splinei, ganglionilor limfatici), sângele (picătura groasă, frotiul subțire) Romanovski-Giemza.
Naegleria fowleri	Colorarea cu coloranți fluorescenți.
Genul Plasmodium	Colorația sângelui (picătura groasă, frotiul subțire) Romanovski-Giemza, Rait-Leishman.
Pneumocystis carinii	Colorarea biomaterialului (sputei, mucozității faringeale și nazale, bioptatelor pulmonare, lavajului bronhoalveolar) cu soluția Lugol, Romanovski-Giemza, cu metenamină argintată după Gomori, urotropină-argint, acid periodic (reactivul Shiff).
Genul Sarcocystis S. hominis S. suihominis	Colorația cu soluția Lugol, metoda de îmboogățire prin flotare în soluția de $ZnSO_4$ de 33%.
Toxoplasma gondii	Colorația biomaterialului - sângele, LCR, punctatele ganglionilor limfatici, -- bioptatele măduvii hematogene, exudatele, materialul necroptic, sputa, lichidul de lavaj după Romanovski-Giemza, Leishman.
Trichomonas vaginalis	Colorarea biomaterialului cu soluție 1% albastru de metilen, după Gram, cu soluție apoasă 0,5,% verde de briliant, după Romanovski-Giemza, Leishman.
Genul Trypanosoma T brucei Specia rhodesiense Specia gambiense T. cruzi	Colorația Romanovski-Giemza, Rait-Leishman.

8.4.2.1.2 Microscopia cu fluoriscență.

Genul Acanthamoeba
Entamoeba histolytica
Naegleria fowleri

8.4.2.1.3 Microscopia electronică a secțiunilor histologice.

Genul Acanthamoeba	Greer.
Leischmania donovani	Ficat, splină, ganglioni limfatici.
Naegleria fowlerii	Membranele creerului.
Pneumocystis carinii	Plămânii.
Sarcocystis lindemanni	Miocard, creer.
Toxoplasma gondii	Creer, ficat, splină, ganglioni limfatici, măduva hematogenă, miocard, plămâni, țesuturile și membranele fătului.
Trypanosoma brucei	Creer, ficat, splină, măduva hematogenă, miocard, esofag, intestinul gros.
Trypanosoma cruzi	Creer, ficat, splina.
Trypanosoma rhodesiense	Ganglionii limfatici.

8.4.2.2 Cultivarea*

Genul Acanthamoeba
Balantidium coli
Entamoeba histolytica
Giardia lamblia
Genul Leischmania
Naegleria fowleri
Toxoplasma gondii
Trichomonas vaginalis
Genul Trypanosoma

8.4.2.3 Cercetări imunoserologice

(Antigenii și anticorpii în serul sanguin, lichidul cefalorahidian și alte mariale biologice).

Genul Acanthamoeba	Antigeni anticorpi	RLC RIF ELISA
A. astronyxis A. castellanii A. culbertsoni A. polyphaga	Antigeni anticorpi Antigeni anticorpi Antigeni anticorpi Antigeni anticorpi	RIF RIF RIF RIF
Genul Babesia	Anticorpi Anticorpi IgM IgG	RIF RIF
B. argentina B. bovis B.divergens B. microti	Anticorpi IgM IgG Anticorpi IgM IgG Anticorpi IgM IgG Anticorpi IgM IgG	RIF RIF RIF RIF ELISA
Cryptosporidium parvum	Antigeni	RIF ELISA
Entamoeba histolytica	Antigeni Anticorpi Anticorpi IgA IgM IgG	RIF ELISA RLC ID RIF LA RHAI ELISA
Giardia lamblia	Antigeni Anticorpi	RIF ELISA RIF
Genul Leischmania	Antigeni Anticorpi	RIF RLC RHAI LA RIF
Genul Plasmodium	Antigen Anticorpi	RIF RHAI RIF ELISA

P. falciparum P. malariae P. ovale P. vivax	Antigen Anticorpi IgM IgG Antigen Anticorpi IgM IgG Anticorpi IgM IgG	RIF RIF RIF RIF RIF
Pneumocystis carinii	Antigen	RIF
Toxoplasma gondii	Anticorpi Anticorpi IgA IgM IgG	RLC RHAI LA RIF ELISA RIA
Genul Trypanosoma Trypanosoma brucei	Antigen Anticorpi Anticorpi IgA IgM IgG	RIF RLC RIF RLC RIF ELISA

8.4.3 Metodele de biologie moleculară

Entamoeba histolytica - PCR
Genul Leishmania - PCR
Genul Plasmodium - PCR
Pneumocystis carinii - PCR
Toxoplasma gondii - PCR
Trichomonas vaginalis - PCR

Abrevieri:

RA - reacţia de aglutinare
LA - latex-aglutinarea
COA - coaglutinarea
RFC - reacţia de fixare a complimentului
RHAI - reacţia de hemaglutinare indirectă
RAHA - reacţia de agregathemaglutinare
RNAG - reacţia de neutralizare a antigenului
RNAT - reacţia de neutralizare a anticorpilor
RIHA - reacţia de inhibiţie a hemaglutinării
RP - reacţia de precipitare
RHAP - reacţia de hemaglutinare pasivă
RIF - reacţia de imunofluorescenţă
ELISA - analiza imunoenzimatică
IgA - imunoglobulina A
IgM - imunoglobulina M
IgG - imunoglobulina G
PCR - reacţia de polimerizare în lanţ
TFB - testul de floculare cu bentonită
IB - imunoblot
ID - imunodifuzia
IEF - imunoelectroforeza
RIFI - reacţia de imunofluorescenţă indirectă.
RTHA - reacţia de termohemaglutinare

BIBLIOGRAFIE

1. Номенклатура клинических лабораторных исследований, М.,1976.

2. Классификация и номенклатура ферментов. Изд.иностранной литературы. М.,1962, 199с.

3. EN 1614 Health informatics - Structure for nomenclature, classification and coding of properties in clinical laboratory sciences (will replace ENV 1614: 1995).

4. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Biochemical nomenclature and related documents. Portland Press: London, 1992.

5. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Enzyme nomenclature. Recommendations 1992. Academic Press: San Diego, 1992.

6. International Union of Immunological Societies. Allergen nomenclature Bulletin WHO; 64:767-770, 1984.

7. International Union of Microbiological Societies. Approved list of bacterial names. American Society for Microbiology: Washington, D.C., 1989.

8. International Union of Microbiological Societies. Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Karger: Basel, 1991.

9. International Union of Pure and Applied Chemistry, International Federation of Clinical Chemistry. Compendium of terminology and nomenclature of properties in clinical laboratory sciences. The Silver Book Blackwell: Oxford, 1995.

Anexa 3
Aprobat ord. MS şi PS
nr. 517 din 14.12.2006

Partea 3

INSTRUCŢIUNI REFERITOR LA FOLOSIREA METODELOR UNIFICATE DE CERCETĂRI DE LABORATOR CLINIC

CAPITOLUL 1

INDICATII GENERALE PRIVIND METODELE UNIFICATE DE CERCETĂRI DE LABORATOR CLINIC

În instrucţiunile metodice valorile sunt exprimate în unităţile prevăzute de Sistemul Internaţional (SI).

În timpul cercetărilor se va ţine cont de următoarele:

a) măsurarea cu cântarul analitic se efectuează cu precizia de 0,0002g , iar cu balanţa tehnică - 0,01 g;

b) pentru determinarea volumelor lichidelor şi prepararea soluţiilor se foloseşte vesela gradată ce corespunde: GOST 1770-74 pentru "cilindre, baloane cotate, pahare gradate" şi GOST 20292-74 pentru "biurete, pipete gradate";

c) în cazul când se indică temperatura "la rece", se are în vedere temperatura de 12-15 °C; "la cald" - temperatura de 18-20 °C. În cazul "fierbinte" temperatura va fi de 40-50 °C, iar la "fierberea pe baie de apă" se va ţine cont de temperatura de 98-100 °C ;

d) dacă pentru soluţii nu este indicat solventul, atunci soluţiile se prepară pe apă, acestea sunt soluţii apoase;

e) sub noţiunea de "apă" fără specificări, se foloseşte apa distilată;

f) apa distilată, folosită pentru prepararea soluţiei va corespunde GOST 6709-72;

g) se folosesc reactivi chimici cu termenul de păstrare neexpirat, iar ambalajul şi condiţiile de păstrare corespund cerinţelor pentru reactivul dat, indicate pe etichetă.

Conform Sistemului Internaţional al unităţilor, concentraţia soluţiilor se exprimă în concentraţie molară (mol/l) sau concentraţie de masă (g/l).

Soluţiile folosite se prepară în volumele corespunzătoare pentru laboratorul dat, ţinînd cont de stabilitatea soluţiilor şi de numărul de cercetări. Pentru majoritatea soluţiilor sunt indicate calificativele admise ale reactivilor. Când lipsesc aceste indicaţii, se vor folosi reactivi cu calificativul *"puritate chimică"*, *"puritate analitică"* sau *"pur"*.

Regulile de preparare a soluţiilor bazice sau acide sunt indicate în îndrumările pentru tehnica lucrărilor de laborator.

Prelucrarea, spălarea şi uscarea veselei de laborator se va face conform îndrumărilor corespunzătoare.

Termenii şi expresiile de mai jos se definesc după cum urmează:

a) *depistare, identificare* este proba calitativă;

b) *determinare, dozare* este proba cantitativă;

c) *materialul biologic pentru cercetare* este materialul, în care se efectuează depistarea sau determinarea;

d) *eşantion* este cantitatea de material biologic adus în laborator pentru cercetare;

e) *proba de cercetat* este proba de material biologic supusă prelucrării în procesul de depistare sau determinare;

f) *proba martor* este proba supusă aceleaşi prelucrări ca şi proba de cercetat, dar care conţine:

1) aceiaşi reactivi dar fără materialul biologic (sau fără soluţia etalon);

2) material biologic diluat în acelaşi mod ca şi proba de cercetat, dar fără reactivi;

3) aceiaşi reactivi plus materialul biologic inactivat;

g) *proba de control* este proba de material de control supusă aceleaşi prelucrări ca şi proba de cercetat pentru depistarea erorilor posibile şi controlul calităţii lucrului efectuat;

h) *Soluţia etalon, soluţia de calibrare* este soluţia care se foloseşte pentru construirea graficului de calibrare;

j) *Proba etalon, proba de calibrare* este proba de soluţie etalon sau de calibrare supusă aceleaşi prelucrări ca şi proba de cercetat;

i) *Calcularea rezultatelor* se efectuează la determinare, dozare;

l) *Aprecierea rezultatelor* se efectuează la depistare.

Reactivii chimici şi puritatea lor. Producţia chimică, denumită în general "reactivi chimici", se caracterizează printr-un grad de puritate mai înalt de cât produsele tehnice respective. Anume puritatea reactivilor chimici şi determină principalele domenii de folosire în calitate de reactivi în cercetările analitice în cele mai diverse domenii ale ştiinţei şi tehnicii, controlul calităţii proceselor tehnologice în diverse ramuri ale industriei, controlul calităţii producţiei industriale şi agricole, analizelor de laborator etc.

Succesele chimiei în ultimii ani sunt deosebit de importante şi nu mai puţin important este progresul tehnic în domeniul substanţelor pure. Pe parcursul ultimilor ani s-a schimbat în mod radical însăşi noţiunea de substanţă pură (în special, despre puritatea chimică) şi au crescut cerinţele faţa de reactivii predestinaţi cercetărilor de laborator.

Dacă cu 30 ani în urmă cele mai bune mostre de reactivi conţineau nu mai puţin de $1x10^{-2}$ - $1x10^{-3}$% impurităţi (adaosuri) de diverse elemente, apoi în prezent se livrează materiale extra pure, în care conţinutul unor adaosuri nu depăşeşte $1x10^{-8}$ - $1x10^{-10}$%.

De menţionat, că la fabricarea substanţelor pure conţinutul impurităţilor, de obicei, uşor poate fi micşorat până la sutimi de procente. Purificarea de mai departe este însă o problemă cu mult mai complicată şi care necesită eforturi mari.

Micşorarea cu un număr de ordine a conţinutului de anumite impurităţi, începând cu 10^{-3}%, necesită folosirea metodelor speciale de purificare. Lucrând cu reactivii chimici trebuie de ţinut cont, că micşorarea conţinutului de adaosuri chiar şi cu un număr de ordine conduce la creşterea bruscă (în progresie geometrică) a costului reactivului.

După cum s-a convenit în fosta URSS pentru reactivii chimici au fost stabilite următoarele categorii de calitate: *"pur"* (чистый ,"ч"), *"puritate analitică"* (чистый для анализа, "ч.д.а."), *"puritate chimică"* (химически чистый, "х.ч.") şi *"puritate deosebită"* (особо чистый, "ос.ч.") ultima categorie la rîndul ei se divizează în câteva mărci.

Reactivii cu calificarea *"pur"* pot fi folosiţi pentru diverse lucrări de laborator atât cu caracter instructiv cât şi de producţie.

Reactivii cu calificarea *"puritate analitică"*, după cum reiesă din denumirea lor, sunt predestinaţi pentru lucrările analitice de exactitate înaltă. Conţinutul adaosurilor în preparatele cu puritate analitică este atât de mică, încât acestea de obicei nu pot invoca erori în rezultatele analizelor. Aceşti reactivi pe deplin pot fi folosiţi în laboratoarele de diagnostic clinic şi în cercetările ştiinţifice.

În sfârşit, reactivii cu calificarea *"puritate chimică"*, sunt predestinaţi pentru cercetările ştiinţifice de mare răspundere, ei se utilizează de-asemenea în laboratoarele analitice în calitate de substanţă pentru stabilirea titrului soluţiilor de lucru şi la pregătirea soluţiilor etalon.

Aceste trei calificări includ toţi reagenţii de predestinaţie generală.

Preparatele de *"puritate deosebită"* sunt predestinate pentru scopuri speciale, când chiar şi a milionimea parte de procente de adaosuri sunt absolut inacceptabile. Principalii utilizatori a acestor reactivi sunt industria materialelor de semiconductori, radioelectronică, electronica cuantică.

Documente de referinţă:

GOST 3885-73. Reactivi şi substanţe deosebit de pure. Reguli de recepţionare, prelevare a probelor, împachetare, ambalare, marcare, transportul şi păstrare.

GOST 6709-72 – Вода дистиллированная (apa distilată).

GOST 4212-76 - Реактивы. Методы приготовления растворов для колориметрического и нефелометрического анализа.(Reactivi. Metodele de pregătire a soluţiilor pentru analiza colorimetrică şi nefelomertică).

GOST 4517 87 - Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе. (Reactivi. Metodele de pregătire a reactivilor auxiliari şi a soluţiilor folosite pentru analiză).

GOST 257941-87 - Титрованные растворы (Soluţii titrate).

GOST 1770-74. Vase cotate de laborator. Cilindre, menzure, retorte, eprubete. Condiţii tehnice.

Приказ № 408 " 0 мерах по снижению заболеваемости вирусным гепатитом", М.,1989.

Информационное письмо РСЭС "О проведении комплекса санитарно-противоэпидемиоло-

гических мероприятий в клинических лабораториях лечпрофучреждений от 23.12.91 г.

Рекомендации по предупреждению инфицирования вирусом иммунодефицита человека и вирусов гепатита в КДЛ - РЦПБ СПИД, Ш,1992.

Рекомендации по отбору, хранению и транспортировке проб крови лаборатории иммунодиагностики СПИД, Кишинев,1991 г.

Condiţii privind protecţia mediului ambiant:

Condiţiile privind protecţia apelor de suprafaţă contra poluării conform Regulamentului igienic "Protecţia bazinelor de apă contra poluării", apobat de Ministerul Sănătăţii al Republicii Moldova prin ordinul nr.06.6.3.23 din 03.07.1997.

Condiţiile privind controlul emisiilor de substanţe poluante în atmosferă conform GOST 17.2.3.02 şi San PiN 4946-89 "Reguli sanitare privind protecţia aerului atmosferic în centrele populate", aprobate de Ministerul Sănătăţii al URSS la 16.05.89 şi ratificate de Ministerul Sănătăţii al Republicii Moldova la 02.07.92, nr.232.

Condiţiile privind protecţia solului contra poluării cu deşeuri menagere şi de producţie conform San PiN 42-128-4690 "Reguli sanitare privind întreţinerea teritoriilor centrelor populate", aprobate de Ministerul Sănătăţii al Republicii Moldova la 02.07.92, nr.232.

EXPLORAREA URINEI

1.1 Metodele de explorare a urinei. Determinarea pH-lui.

1.1.1 Determinarea reacţiei urinei cu ajutorul indicatorului albastru de bromtimol

Principiu. Reacţia urinei se determină, folosind soluţia indicatorului albastru de bromtimol, care are o zonă de trecere a culorii de la galben la verde şi apoi albastru în limitele pH 6,0 - 7,6.

Reactivi:

1.Sol. albastru de bromtimol (3,3 - dibromtimol sulfoftaleină) 1g/l: se dizolvă 0,1 g indicator praf în 20 cm^3 alcool etilic încălzit şi după răcire până la temperatura camerei se aduce cu apă distilată la 100 cm^3.

Echipament special. Nu necesită.

Tehnica de lucru. Se examinează urină în primele 2-3 ore după micţiune. La 2-3 cm3 de urină se adaugă 1-2 picături soluţie indicator. Culoarea galbenă corespunde reacţiei acide, brună-cenuşie – reacţiei slab acide, culorii verzi ca iarba – neutre, brună-verde – slab alcaline, verde-albastră – alcaline.

Culoarea	PH
Roşie	4.6
Roşie-intensă	5.0
Roşie-galbenă	5.4
Galbenă	5.8
galben-verzui	6.2
Verde	6.6
Verde-albastră	7.0
Albastră	7.4

1.1.2 Determinarea pH-ului urinei cu ajutorul hârtiei indicatoare

Se poate de folosit orice tip de hârtie indicator universal pentru măsurarea valorilor pH în intervalul 5,0-8,0. Se introduce în urina proaspăt emisă, timp de 1-2 secunde o bandă de hârtie indicator universală. După 30 de secunde se stabileşte valoarea pH-ului, comparând culoarea hârtiei cu cea a scării de culori care însoţeşte pachetul de hârtie indicatoare.

Valori normale ale pH-ului urinar: 5,0 - 7,4 .

Notă: În condiţii fiziologice, pH-ul urinar variază în funcţie de alimentaţie. Într-o alimentaţie strict carnată, urina este acidă, cu un pH cuprins între 5,2-5,3, în timp ce într-o alimentaţie exclusiv vegetariană, urina este alcalină, cu un pH cuprins între 7,0-7,5. În cazul unei alimentaţii mixte, reacţia urinei este slab acidă, cu pH-ul 5,8-6,0.

Ca şi volumul urinei, valoarea pH-ului este supusă unui ritm nictemeral. Urina cea mai acidă se elimină spre miezul nopţii şi cea mai puţin acidă (uneori alcalină) dimineaţa. Prin păstrare timp mai îndelungat, urina poate deveni alcalină ca urmare a descompunerii bacteriene a ureei în amoniac.

O reacţie acidă a urinei se observă în insuficienţa renală gravă, când rinichiul a pierdut capacitatea de a elimina amoniacul, diabet zaharat şi coma diabetică, în procesele maligne datorită catabolismului crescut al proteinelor, în febră, diaree profuză; un pH puternic alcalin se constată în infecţiile urinare cu anumiţi microbi, care provoacă fermentaţia amoniacală a ureei, în alcaloza respiratorie, alcaloza metabolică, în vărsături acide abundente, precum şi în timpul absorbţiei edemelor.

1.2 Determinarea numărului de elemente figurate ale sângelui în urină

1.2.1 Determinarea numărului de elemente figurate ale sângelui în urina de 24 ore (metoda Addis- Kakovski)

Principiu. Determinarea numărului de elemente figurate ale sângelui (eritrocite, leucocite, cilindri) în urina de 24 ore cu ajutorul camerei de numărat.

Utilaj:
- eprubete de centrifugare gradate;
- cilindri cu capacitatea 1000, 500, 250 cm^3;
- microscop;
- cameră de numărat.

Recoltarea urinei. Urina se colectează 10 - 12 ore. În ziua recoltării urinei se limitează consumul de lichide pentru a menţine valorile constante ale densităţii şi pH-lui urinei ce este important pentru citirea numărului de cilindri hialinici, care uşor se distrug în urină alcalină cu concentraţie şi densitate mică.

Mai raţional e să se colecteze urina de noapte: pacientul se urinează înainte de somn , înregistrîd timpul şi apoi se recoltează urina timp de 10-12 ore într-un vas. Pentru a preveni distrugerea elementelor celulare în vas se adaugă 4-5 picături de formalină sau cristale de timol.

Tehnica de lucru. Urina colectată se amestecă minuţios şi se măsoară volumul ei. Se examinează sedimentul obţinut din cantitatea de urină, eliminată timp de 12 min (1/5 oră), care se calculează după următoarea formulă:

$$Q = \frac{V}{1 \cdot 5}, \qquad (1)$$

unde Q - volumul urinei eliminate timp de 12 min (cm^3),
V - volumul urinei, colectate timp de 10-12 ore (cm^3),
t - timpul colectării urinei (ora),
5 - coeficientul de recalculare la 1/5 oră.

Cantitatea de urină calculată se centrifughează într-o eprubetă de centrifugare gradată la 3500 rotaţii/ min timp de 3 min sau la 2000 rot./min timp de 5 min. Se înlătură stratul superior lăsînd 0,5 cm^3 urină împreună cu sedimentul. Dacă cantitatea sedimentului este mai mare de 0,5 cm^3, atunci se lasă 1,0 cm^3 de urină. Sedimentul împreună cu supernatantul se amestecă bine şi se umple camera de numărat. Se numără aparte cantitatea de leucocite, eritrocite, cilindri (celulele epiteliale ale căilor urinare nu se numără) şi se calculează numărul de elemente figurate în 1 ml de sediment urinar.

Calculul. Dacă numărătoarea se efectuează în camera Goreaev, volumul căreia este egal cu 0,9 ml, atunci cantitatea elementelor intr-un ml se calculează după formula următoare:

$$X = \frac{A}{0.9}, \qquad (2)$$

unde: x - numărul de elemente celulare în 1 ml,
A - numărul elementelor celulare, calculate în toată camera Goreaev;
0,9 - volumul camerei Goreaev în µl .

Pentru camera Fux - Rozental, volumul cărea este de 3,2 μl,

$$X = \frac{A}{3,2}, \qquad (3)$$

cantitatea de elemente figurate, emise cu urină în 24 ore, se calculează după formula :

$$B = x \cdot 500 \cdot 5 \cdot 24 = x \cdot 60000, \qquad (4)$$

dacă pentru cercetare s-a luat 0,5 cm³ (500 μl) din cantitatea de 12 min urină sau:

$$B = x \cdot 1000 \cdot 5 \cdot 24 = x \cdot 120000, \qquad (5)$$

dacă cantitatea sedimentului a fost abundent și a fost lăsat 1 cm³ (1000 μl), unde: B - numărul de elemente celulare, emise în 24 ore, x - numărul de elemente celulare 1 ml urină, luate pentru examinarea sedimentului urinar,

500 sau 1000 - cantitatea de urină (μl) luate împreună cu sedimentul pentru examinarea porției de urină din 12 min.

Înmulțind la 5 și 24 aflăm numărul de elemente celulare emise în 24 ore.

Valorile normale ale elementelor celulare emise în 24 ore cu urină: până la 2 000 000 leucocite, 1 000 000 eritrocite, 20 000 cilindri.

Notă: Pentru a calcula cantitatea de cilindri e necesar de examinat patru camere Goreaev sau o cameră Fux-Rozental.

1.2.2 Determinarea cantitativă a elementelor celulare în urină (metoda Neciporenko)

Principiu. Determinarea numărului de elemente celulare (eritrocite, leucocite, cilindri) la 1,0 cm³ de urină cu ajutorul camerei de numărat.

Utilaj:
- eprubete de centrifugare gradate;
- centrifugă clinică cu rotor orizontal;
- cameră de numărat Goreaev;

Tehnica de lucru. Se ia porția de mijloc a urinei în timpul micțiunii (se recomandă dimineața), se determină pH-ul urinii (în mediu alcalin poate avea loc distrugerea elementelor celulare). Se centrifughează 5,0 - 10,0 cm³ urină la 3500 rot/min timp de 3 min, se înlătură supernatantul și se lasă 0,5 cm³ urină, dacă sedimentul este abundent atunci se lasă 1,0 cm³ (1000 μl). Se amestecă bine sedimentul și se umple camera de numărat. În toate pătrățelele camerei se numără aparte eritrocitele, leucocitele și cilindri.

Calcularea rezultatelor. Se calculează numărul de celule în 1 μl de sediment al urinii după formula (2) și (3). Numărul de elemente celulare într-un cm³ se calculează după formula :

$$N = \frac{x \cdot 500}{V}$$ la 0,5 cm³ (500 μl) sediment urinar, sau

$$N = \frac{x \cdot 1000}{V}$$ la 1,0 cm³ (1000 μl) sediment urinar,

unde N - numărul elementelor celulare într-un 1,0 cm³ (1 000 μl) urină;
x - numărul elementelor celulare într-un 1,0 μl urină lăsată împreună cu sedimentul urinar;
500 (sau 1000) - volumul urinei (μl) lăsată cu sedimentul urinar;
V - volumul de urină luată pentru centrifugare.

Valori normale: Într-un 1,0 cm³ de urină se elimină până la 2 000 leucocite și până la 1 000 eritrocite; cilindri lipsesc sau se depistează nu mai mult de unul la o cameră Fux - Rozental, sau la patru camere Goreaev (până la 20 în 1 cm³) .

1.3 Cercetarea corpilor cetonici

Compuşii cetonici rezultă în cazul dereglării catabolismului acizilor graşi. Aceştea sunt: acidul acetilacetic, acidul hidroxibutiric, acetona. Ei se conţin în cantităţi mici în urina normală, mai ales sub formă de acetonă. În cazurile patologice, cantitatea eliminată de compuşi cetonici creşte în mod considerabil şi atunci apare, în special, acidul acetilacetic care la decarboxilare se transformă în acetonă.

1.3.1 Depistarea corpilor cetonici prin reacţia cu nitroprusiat de sodiu.

Metoda 1. Proba Langhe

Principiu. Nitroprusiatul de sodiu în mediu alcalin reacţionează cu corpii cetonici (acetona şi acidul acetilacetic) cu formarea unui compus complex de culoare roşie.

Reactivi:

- soluţie nitroprusiat de sodiu, 50 g/l: 0,5 g nitroprusiat de sodiu se dizolvă în 10 cm^3 acid acetic p.a. 10 %;
- soluţie de amoniac 25 %.

Echipament special. Nu este necesar.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se măsoară 5 cm^3 urină filtrată în prealabil şi se adaugă 1 cm^3 soluţie nitroprusiat de sodiu. Se agită uşor, apoi se înclină eprubeta şi se stratifică atent 1 - 2 cm^3 soluţie de amoniac. Se lasă pe 5 minute. În caz când reacţia este pozitivă, la limita de separare apare un inel violaceu. Intensitatea culorii variază în raport cu concentraţia corpilor cetonici în urină.

Metoda 2 (modificaţia Rother)

Principiu . Acelaşi.

Reactiv Rother (praf care se păstrează timp îndelungat):

- nitroprusiat de sodiu, 200 g
- carbonat de sodiu anhidru, 200 g
- sulfat de amoniu, 200 g

Aceste substanţe sunt amestecate minuţios.

Tehnica de lucru: Pe o lamă de sticlă se pune un vîrf de cuţit de reactiv Rother şi se adaugă urină de cercetat până se formează o pastă. În caz că reacţia este pozitivă amestecul se colorează în violet, intensitatea culorii fiind proporţională cu concentraţia corpilor cetonici.

1.3.2 Metoda expres de depistare a compuşilor cetonici

Principiul metodei se bazează pe reacţia specifică dintre corpii cetonici şi nitroprusiatul de sodiu. Avantajele acestei metode sunt: rapiditatea efectuării şi obţinerii rezultatelor, specificitatea înaltă, posibilitatea efectuării cercetării fără o dotare specială şi eficienţa înaltă.

Analiza se execută strict conform instrucţiunii la test.

Valori normale: în normă cu urină se elimina 20-50 mg compuşi cetonici în 24 ore. Această cantitate nu se evidenţiază prin această probă calitativă, de acea în normă probele calitative sînt negative.

Notă. Acidul acetoacetic într-o probă sterilă de urină este stabil în decurs de 8 - 10 zile; în prezenţa microbilor sau a levurilor poate să dispară complect din probă în 24 ore. Aproximativ 20 % din acetonă se evaporă timp de 24 ore la temperatura camerei. Compuşii cetonici pot să dispară în cazul prezenţei infecţiei căilor urinare.

1.4 Determinarea urobilinoizilor în urină şi materiile fecale

1.4.1 Determinarea urobilinogenului în urină şi materiile fecale prin reacţia cu para-dimetilaminobenzaldehidă.

Principiu. Urobilinogenul reacţionează cu para-dimetilaminobenzaldehida în mediu acid cu formarea unui compus colorat în roşu, intensitatea căruia este direct proporţională cu cantitatea de urobilinogen. Pentru reducerea urobilinei în urobilinogen se utilizează acidul ascorbic şi hidroxidul de fier. Pentru mărirea specificităţii reacţiei se adaugă acetat de sodiu.

Reactivi:

1. Para-dimetilaminobenzaldehidă, pur.anal.

2. Acid clorhidric concentrat, pur chim.

3. Reactivul Ehrlich: 0,7 g p-dimetilamino-benzaldehidă se dizolvă în 150 cm^3 acid clorhidric concentrat, se adaugă 100 cm^3 apă distilată şi se amestică. Soluţia trebuie să fie incoloră sau uşor gălbuie. Se păstrează în veselă din sticlă brună. Soluţia este stabilă.

4. Soluţie saturată de acetat de sodiu: 375 g $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ (sau 226 g CH_3COONa) se dizolvă în 250 cm^3 apă distilată caldă, se răceşte până la temperatura camerei. Soluţia trebuie să fie incoloră şi transparentă.

5. Sulfat de fier ($FeSO \cdot 7H_2O$), soluţie 200 g/l. Stabil 24 ore la frigider.

6. Acid ascorbic.

7. Soluţie de NaOH : a) sol.100 g/l ; b) sol. 0,5 g/l.

8. Clorură de bariu , sol. 100 g/l.

9. Fenolsulfoftaleină (roşu de fenol). Se foloseşte pentru prepararea soluţiei de etalonare.

10. Soluţie etalon stoc: 20,0 mg fenolsulfoftaleină se dizolvă în 100 cm^3 0,5 g/l NaOH. Este stabilă la păstrare la temperatura de cameră.

Soluţia etalon de lucru se prepară prin dizolvarea sol. etalon stoc cu sol. 0,5 g/l NaOH de 100 ori. E stabilă la temperatura camerei o săptămînă. Sol. de lucru ce conţine 0,2 mg fenolsulfoftaleină în 100 cm^3 este echivalentă după culoare cu 0,346 mg/100 cm^3 soluţie de urobilinogen.

Exactitatea preparării acestei soluţii se poate verifica prin măsurarea densităţii optice la spectrofotometru : la 562 nm densitatea optică va fi egală cu 0,38 – 0,39.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 560 ± 10 sau 580 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005$ cm^3;

P r e p a r a r e a   p r o b e i. Se examinează urina proaspăt eliminată în primele 2-3 ore. Dacă urină este tulbure se centrifughează. Se determina prezenţa bilirubinei cu ajutorul unei probe calitative. Dacă este prezentă bilirubina în probă atunci se amestecă 8 cm^3 urină cu 2 cm^3 100 g/l clorură de bariu şi se filtrează printr-un filtru de hârtie. Rezultatul final se înmulţeşte la coeficientul de corecţie 1,25 , luând în consideraţie diluţia.

Tehnica de lucru: 100 mg acid ascorbic se dizolvă în 10 cm^3 urină proaspătă şi apoi în două eprubete se măsoară câte 1,5 cm^3 (proba de cercetat şi proba martor).

În eprubeta cu proba martor se adaugă 4,5 cm^3 de amestec proaspăt pregătit a unui volum de reactiv Ehrlich cu două volume de soluţie saturată de acetat de sodiu.

În eprubeta cu proba de cercetat se adaugă 1,5 cm^3 reactiv Ehrlich şi imediat se adaugă 3,0 cm^3 de sol. saturată acetat de sodiu. Peste 5 minute se măsoară extincţia la fotoelectrocolorimetru la 500-590 nm (culoare verde) într-o cuvă de 1 cm sau la spectrofotometru cu lungimea de undă 562 nm. Soluţia etalon se măsoară în aceleaşi condiţii ca şi proba de examinat.

Rezultatul se exprimă în unităţi Ehrlich (1 unitate corespunde la 1,0 mg urobilinogen la 100 cm^3 urină).

Calculul se efectuează după formula:

$$Un.Ehrlich / 1L = \frac{Epr - Eblanc}{Epr.calibrare} \cdot 0{,}346 \cdot \frac{6.0}{1.5} = \frac{Epr - Eblanc}{Epr.calibrare} \cdot 1{,}38,$$

urină

unde : Epr - extinţia probei de cercetat;

Eblanc - extinţia probei martor;

Epr. calibrare - extinţia probei etalon;

0,346 - concentrația urobilinogenului în soluție (0,346 mg/100 cm^3), intensitatea colorării căreia este echivalentă cu intensitatea colorării soluției etalon de fenolfsulfoftaleină;

6,0 - volumul probei (cm^3);

1,5 - cantitatea de urină în probă (cm^3).

SCHEMA DE DETERMINARE A UROBILINOGENULUI ÎN URINĂ

Nr. d/r	Componenții	Cantitatea (cm^3)		
		Proba examinată	Proba martor	Proba etalon
1.	10 cm^3 urină+100 mg acid ascorbic	1.5	1.5	-
2.	Reactiv Ehrlich	1.5	-	-
3.	Soluție saturată de acetat de sodiu	3.0	-	-
4.	Amestec de reactiv 2 și 3 (1:2)	-	4.5	-
5.	Soluție etalon fenolsulfoftaleină	-	-	6.0

Se măsoară extincțiile la fotocolorimetru (la 500-590 nm, cuva - 1 cm)

Urină normală de 24 ore conține 0,2 - 0,6 mg, la copii 0-0,2 mg urobilinogen.

Notă:

1.Urină nu trebuie expusă la lumină, deoarece aceasta accelerează oxidarea urobilinogenului în urobilină. Se recomandă colectarea urinei în vesela din sticlă întunecată.

2.Pentru a obține cantitatea de urobilinogen eliminat într-un interval de timp (de exemplu 2 ore), analiza se efectuează în proba de urină, colectată în acest interval de timp și se calculează cantitatea de urobilinogen eliminat, tinînd cont de volumul urinei, după formula :

$$\frac{Eproba - Emartor}{Epr.calibrare} \cdot 1{,}38 \cdot \frac{V}{100}, \text{ unde}$$

V - volumul urinii(cm^3), eliminată într-un interval de timp;

1/100 - coeficientul de calculare a cantității de urobilinogen în 1cm^3 de urină.

DETERMINAREA UROBILINOGENULUI ÎN MATERIILE FECALE.

Prepararea probei. Se examinează materiile fecale în primele 2 ore după defecare. Se transferă 10 g fecale într-un mojar . În cilindru se măsoară 190 cm^3 apă. Din cantitatea de apă măsurată se toarnă 20 cm^3în mojar, se omogenează fecalele cu apă, se adaugă încă 80-90 cm^3 apa și se omogenizează din nou, se lasă până se sedimentează. Într-un balon conic cu un volum de 500 cm^3 se măsoară 100 cm^3 soluție 200 g/l sulfat de fier, tot acolo se adaugă supernatantul din mojar. La cantitatea de fecale rămasă în mojar se adaugă apă din cilîndru, se omogenizează, se lasă să se sedimenteze și supernatantul se transferă în balon. Se repetă procedura folosind cantitatea de apă rămasă din cele 190 cm^3. În balon se adaugă 100 cm^3 100 g/l sol NaOH, se amestecă și se lasă balonul 1-3 ore la întuneric la temperatura camerei.

Se amestecă bine conținutul balonului și se filtrează. Se i-a 5 cm^3 din conținutul filtratului și se diluează cu 50 cm^3 apă. În 10 cm^3 filtrat diluat se dizolvă 100 mg acid ascorbic și se repartizează câte 1,5 cm^3 în două eprubete (proba de examinare și proba martor). Dozarea se efectuează în mod analogic ca și în cazul " determinării urobilinogenului în urină ".

Calculul se efectuează după aceeași formulă ca în cazul urinei, rezultatul obținut (concentrația urobilinogenului în 100 cm^3) se înmulțește la 400 pentru recalcularea la 100 g fecale (pentru extragerea urobilinogenului din 10 g fecale se folosește volumul de lichid - 390 cm^3, apoi filtratul este diluat încă de 10 ori, astfel în 100 cm^3 filtrat folosit pentru analiză se conține urobilinogen din 0,25 g fecale).

$$Un.Ehrlich = \frac{Emartor - Eproba}{Emartor} \cdot 1{,}38 \cdot 400 = \frac{Emartor - Eproba}{Emartor} \cdot 552,$$

unde: 400 - coeficientul de recalculare a cantității de urobilinogen la 100 g fecale. Celelalte valori vezi dozarea urobilinogenului în urină.

Valori normale. În normă cu fecalele se elimină 750-3500 mg de urobilinogen la 1000 g fecale.

1.4.2 Depistarea urobilinei în urină (proba Florense)

Principiu. Urobilina formează cu acidul clorhidric compuşi de culoare roşie.

Reactivi.

1.Acid sulfuric concentrat.

2.Eter dietilic.

3.Acid clorhidric concentrat.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;

Tehnica de lucru. Se măsoară 8-10 cm^3 urină şi se acidulează cu 8-10 picături acid sulfuric concentrat, se amestecă, se adaugă 2 - 3 cm^3 eter etilic şi cu atenție se amestecă. Se colectează stratul de eter de la suprafață şi se toarnă atent într-o altă eprubetă uşor înclinată ce conține 2-3 cm3 acid clorhidric concentrat în aşa mod ca să se formeze 2 straturi.

Aprecierea rezultatului. În prezența urobilinei la limita dintre cele două lichide se formează un inel de culoare roşie.

1.4.3 Depistarea urobilinei în urină (proba Bogomolov).

Principiu. Urobilina în prezența sulfatului de cupru formează un compus de culoare roşie-violetă.

Reactivi.

1.Soluție saturată de sulfat de cupru: în 100 cm^3 de apă distilată se dizolvă 23 g $CuSO_4 \times 5\,H_2O$.

2.Cloroform.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;

Tehnica de lucru. La 10-15 cm^3 urină se adaugă 2-3 cm^3 soluție saturată de sulfat de cupru. Dacă apare o turbiditate atunci se adaugă câteva picături de acid clorhidiric concentrat până la dispariția opalescenței. După 5 minute se adaugă 2-3 cm^3 de cloroform şi se amestecă.

Aprecierea rezultatelor: În prezența urobilinei stratul de cloroform se colorează în rosu-violet.

1.4.4 Depistarea urobilinei (stercobilinei) în materiile fecale prin reacția cu clorură de mercur ($HgCl_2$)

Principiu. Stercobilina formează cu clorura de mercur un compus de culoare roşie-violetă.

Reactivi.

1.Sol. de biclorură de mercur ($HgCl_2$), (sublimat) 70 g/l. Se dizolvă la fierbere şi la răcire se filtrează.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0{,}1$ cm^3;

Tehnica de lucru . Un glob de fecale cât un bob de mazăre se omogenează într-un vas de porțelan sau într-o eprubetă cu 2-3 cm^3 70 g/l $HgCl_2$, se acoperă cu un capac sau dop şi se lasă la temperatura camerei în dulapul de ventilație pe 24 ore. Proba martor se prelucrează ca şi proba de cercetat, însă în loc de sol. $HgCl_2$ se adaugă apă.

În prezența stercobilinei în proba de cercetat apare culoarea roză.

Aprecierea rezultatelor se poate face imediat, dacă eprubetele cu probele de cercetat şi martor se încălzesc la flacăra unui arzător.

Prezența bilirubunei dă o culoare verde.

În normă reacția este pozitivă.

1.5 Determinarea porfobilinogenului în urină prin reacția cu p-dimetilbenzaldehidă

Principiu. Porfobilinogenul (PBG) reacționează cu para-dimetilbenzaldehida cu formarea unui complex de culoare roșie. Pentru majorarea specificității reacției se adaugă acetat de sodiu. Compușii, care reacționează în mod analogic cu para-dimetilbenzaldehida (urobilinogenul, derivați ai indolului și scatolului ș.a.), se înlătură prin extracția cu cloroform și butanol. PBG nu se dizolvă în butanol sau cloroform.

Reactivi. Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică și apa folosită trebuie să fie distilată sau apă de puritate echivalentă.

1.Paradimetilbezaldehidă.

2.Acid clorhidric concentrat.

3. Reactiv Ehrlich: 0,7 g paradimetibezaldehidă se dizolvă în 150 cm^3 acid clorhidric concentrat, apoi se adaugă 100 cm^3 apă disdilată . Se ajită. Soluția trebue să fie incoloră sau slab - gălbuie. Se păstrează într-un vas de culoare brună. Reactivul este stabil.

4. Soluție saturată de acetat de sodiu: 375 g $CH_3COONa.3H_2O$ (sau 226 g CH_3COONa) se dizolvă în 250 cm3 apă distilată caldă, se răcește până la temperatura camerei. Se păstrează la temperatură camerei. Soluția trebuie să fie incoloră și transparentă.

5.Cloroform.

6.Alcool butilic.

7.Hârtie indicator pH (cu intervalul de 4,0-5,0).

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 630 ± 10 sau 690 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,05 cm^3;

Tehnica de lucru. Se examinează urina eliminată în primele 2-3 ore. Într-o eprubetă se introduc 2,5 cm^3 reactiv Ehrlich , 2,5 cm^3 urină, se adaugă 5 cm^3 soluție saturată de acetat de sodiu și se agită energic. Se măsoară pH-ul, care trebuie să fie în intervalele 4,0-5,0; dacă pH-ul este mai mic de 4,0, se adaugă soluție de acetat de sodiu pentru a stabili pH-ul necesar.

Interpretarea rezultatelor: Colorația roșie lipsește - rezultatul este negativ. Dacă apare culoarea roză sau roșie atunci se adaugă 5 cm^3 cloroform și se agită energic. Dacă culoarea trece în stratul de cloroform, iar stratul de apă devine incolor sau galben - rezultatul este negativ.

Dacă după adăugarea cloroformului culoarea roșie a stratului de apă se păstrează, atunci se transferă 6-8 cm^3 din stratul colorat de apă într-o altă eprubetă, se adaugă alcool butilic în proporție de 2:1 și se agită. De obicei straturile se despart foarte repede; în caz contrar amestecul se centrifughează. Dacă culoarea trece în stratul de butanol - rezultatul este negativ. DACĂ STRATUL DE APĂ RĂMÂNE COLORAT - REZULTATUL ESTE POZITIV PENTRU PBG.

Schema determinării PGB şi interpretarea rezultatelor

Componenţii	Cantitatea (cm^3)	Interpretarea rezultatelor	
		Prezenţa (+) ori lipsa (-) culorii roze sau roşii	Compuşii depistaţi
Urină Reactiv Ehrlich Soluţie saturată acetat de sodiu	2.5 2.5 5.0	(-) +	PBG-negativ PBG, urobilinogen, indol, indoxil-3-acetat, scatol, melanogen, acid opsopiroldicarboxilic şi al.
Cloroform	5.0	Strat de apă (-) Strat de apă (+)	PBG negativ PBG, melanogen acid opsopiroldicarboxilic, şi al.
		Strat de cloroform (+)	Urobilinogen, indol, indoxil-3-acetat, scatol şi al.
Alcool butilic	3.0-4.0	Strat de apă (-) Strat de apă (+)	PBG negativ PBG pozitiv
		Strat de alcool butilic (+)	Melanogen, acid opsopiroldicarboxilic, şi al.

Norma (0,0 - 0,2mg/l), însă la acest nivel PBG în urină nu se depistează. Prin metoda descrisă se depistează concentraţii de PBG mai mari de 6,0 mg/l.

Notă. La păstrarea urinei mai mult de 3 ore la temperatura camerei reacţia pozitivă poate deveni negativă, fiindcă porfibilinogenul se transformă în porfirine la lumină şi aer. Dacă nu este posibil ca urină să fie examinată imediat după emisie, ea trebuie păstrată la rece sau se îngheaţă. În urina cu pH-ul adus la 6.0-7.0 şi la păstrarea la frigider, PBG este stabil timp îndelungat.

1.6 Identificarea proteinelor în urină cu acid sulfosalicilic

Principiul metodei constă în precipitarea proteinelor de către acidul sulfosalicilic. Apariţia turbidităţii indică prezenţa proteinelor în urină.

Reagenti : Soluţie de acid sulfosalicilic de 20 %;

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: În 2 eprubete se toarnă câte 3-4 cm^3 de urină filtrată. În proba de cercetat se adaugă 6-8 picături de acid sulfosalicilic de 20 %. A doua eprubetă serveşte drept martor. Se agită uşor, apoi se compară eprubeta de cercetat cu eprubeta martor. În eprubeta de cercetat urina care conţine proteine devine opalecescentă (proba pozitivă). Dacă urină rămâne transparentă, proteina lipseşte. Rezultatul se citeşte pe fon negru. Cantitatea minimală de proteină, depistată prin această metodă este de 0,015 g/l.

Norma: Urină unui om sănătos conţine o cantitate neînsemnată de proteine, care prin metoda descrisă mai sus nu se depistează.

Notă:

1. Urină pentru cercetare se filtrează sau se centrifughează.
2. pH-ul urinei trebuie să fie acid, în caz contrar se acidulează cu acid acetic 5-10 %, până la reacţia acidă.

1.7 Depistarea glucozuriei

1.7.1 Depistarea glucozei în urină prin reacţia de reducere a cuprului

A. Proba Haines *Principiu*: Metoda se bazează pe proprietatea glucozei de a reduce hidroxidul de cupru de culoare albastră la încălzire în mediu alcalin, în hidroxid şi oxid cupros de culoare galben-cărămizie. Pentru a preîntâmpina formarea precipitatului negru de oxid de cupru din hidroxidul de Cu la

încălzire reactivul Haines conține glicerol a căror grupe hidroxilice leagă hidroxidul de Cu.

Reactivi:

Soluția Haines.

1. 13,3 g de sulfat de cupru cristalin ($CuSO_4$ $5H_2O$) "chimic pur" se dizolvă în 400 cm^3 H_2O distilată.
2. 50,0 g NaOH se dizolvă în 400 cm^3 de apă distilată.
3. 15,0 g glicerol pur se dizolvă în 200 cm^3 de apă distilată.

Se amestecă soluțiile 1 și 2 și imediat se adaugă reactivul 3. Soluția este stabilă. *Utilaj:*

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;

Tehnica de lucru. La 3-4 cm^3 soluție Haines se adaugă 8-12 picături de urină și se încălzește la flacăra arzătorului de gaz sau spirtierei partea de sus a amestecului până la începutul fierberii. În prezența glucozei culoarea albastră a soluției se schimbă în galben-caramiziu. Porțiunea de jos a eprubetei nefiind supusă încălzirii, servește drept martor. Pentru lucru în serie, eprubetele cu amestecul de reacție se introduc în baia cu apă clocotită și se încălzesc 1-2 minute. În lipsa glucozei culoarea albastră a soluției Haines se păstrează.

Norma. Urină unui om sănătos conține o cantitate neînsemnată de glucoză, care prin proba descrisă nu poate fi detectată.

Notă:

1. Pentru cercetare se folosește urină proaspătă.
2. Pentru conservarea urinei se folosește - cloroform, timol, toluol - 0,1 cm^3 la 100-200 cm^3 de urină.

1.8 Depistarea bilirubinei în urină

1.8.1 Proba calitativă de determinare a bilirubinei în urină prin sedimentarea cu săruri de bariu

Principiu. Bilirubina din urină este succesiv precipitată cu clorura de bariu și apoi oxidată în prezența reactivului Fouchet.

Reactivi:

1. Soluție 15 % clorură de bariu ($BaCl_2$).
2. Reactivul Fouchet (26,0 g acid tricloracetic se dizolvă în 100 cm^3 apă distilată și se adaugă 1,0 g clorură de fier).

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;

Tehnica de lucru. La 10 cm^3 urină se adaugă 5 cm^3 sol. clorură de bariu de 15%. Se agită și se filtrează. Apoi filtrul de hârtie se scoate din pâlnie și se întinde pe un alt filtru uscat. Se aplică 1-2 picături de reactiv Fouchet în centrul filtrului ce conține precipitat de clorură de bariu. În prezența bilirubinei apar pete de culoare verzi-albastrui sau albastre. Reacția se socoate pozitivă.

Norma. Urina unui om sănătos conține o cantitate infimă de bilirubină care prin metodele obișnuite de laborator nu se detectează.

Notă. Urină alcalină trebuie acidulată adăugând câteva picături de acid acetic concentrat.

1.8.2 Depistarea bilirubinei în urină cu soluția alcoolică de iod (proba Rozin)

Principiu: Se bazează pe oxidarea bilirubinei în biliverdină sub acțiunea iodului.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se toarnă 3-4 cm^3 urină și apoi foarte atent!!! se stratifică câteva picături de I_2. În prezența bilirubinei la limita dintre 2 straturi apare un inel de culoare verde.

Urină normală conține o cantitate infimă de bilirubina, care nu se depistează prin metoda descrisă mai sus.

Notă.

1. La administrarea antipirinei și în prezența sângelui proba devine pozitivă.
2. În toate cazurile suspecte pentru excluderea reacției fals-pozitive este necesar de a efectua proba Fouchet.

CAPITOLUL 2

CERCETĂRILE HEMATOLOGICE

2.1 Numărătoarea eritrocitelor

2.1.1 Numărătoarea eritrocitelor la analizoare hematologice automate

Principiul se bazează pe diferența conductibilității electrice a particulelor și lichidului în care acestea sunt suspendate. Elementele sângelui, nimerind în câmpul electric, modifică rezistența circuitului, ceea ce se înregistrează de contorul electric automat.

Utilaj: analizor hematologic automat. Pregătirea reagenților și mersul determinării se efectuează conform instrucției la aparat.

2.1.2 Numărătoarea eritrocitelor în camera de numărat

Principiul se bazează pe numărătoarea directă, la microscop, în camera de numărătoare pentru eritrocite într-un litru de sânge a celulelor diluate într-o proporție cunoscută și un volum anumit al camerei.

Reactivi: 1. Clorură de sodiu 0,9 %.

2.Soluție Hayem:

Sublimat corosiv - 0,5 g,

Sulfat de sodiu - 5,0 g,

Clorură de sodiu - 1,0 g,

Apă distilată - până la 200 cm^3.

Utilaj:

- *balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;*
- *baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm^3;*
- *pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;*
- *pipetă dozator cu capacitatea $0,020 \pm 0,0002$ cm^3;*
- Microscop;
- Camera de numărat Goreaev.

Tehnica de lucru: Într-o eprubeta curată, uscată se pipetează 4 cm^3 reactiv 1 sau 2. Se recoltează 20 mkl sânge capilar. Se șterge atent vârful pipetei și se suflă sângele la fundul eprubetei; pipeta se clătește minuțios de 2-3 ori în stratul de sus al lichidulul de diluție. Conținutul eprubetei se agita.

Umplerea camerei de numărat. Înainte de umplere camera de numărat și lamela se spală și se șterge până la uscat. Se aplică lamela pe lama celulei de numărat prin simplă păsuire. Este necesară o bună aderență între lamă și lamelă, care este asigurată când se formează inele Newton (inele colorate de refracție). Numai respectând aceste condiții se poate obține volumul și înălțimea stabilă a camerei de numărat. Înainte de umplere se agită de câteva ori conținutul eprubetei. Cu o baghetă de sticlă cu capătul rotungit se ia o picătură de sânge din eprubetă. Bagheta se apropie de marginea camerei acoperită cu lamela și se lasă să între, prin capilaritate, în cameră, o cantitate de lichid în spațiul format între lamă și lamelă. Se introduce atîta lichid încât spațiul dintre lamă și lamelă să fie umplut în întregime, fără ca lichidul să treacă în șanțurile laterale, fără ca lamela să se deplaseze, fără să între bule de aer în cameră; în caz contrar operația se repetă după ștergerea camerei. Se așteaptă o minută, pentru sedimentarea elementelor pe cadrilajul camerei. Se examinează camera la microscop (obiectivul x8, ocularul - x10 sau x15, în câmp întunecat (diafragma semiînchisă sau condensorul ușor lăsat în jos). Se numără eritrocitele în 5 pătrate mari conținând fiecare câte 16 pătrățele mici (5 x 16 = 80 pătrățele mici) situate pe diagonală, deoarece eritrocitele se pot distribui neuniform pe suprafața cadrilajului. Conform regulii, se numără eritrocitele din interiorul pătratelor mici, iar cele ce se află pe intersecții se numără numai pe două laturi - de sus și din stânga. Pentru a evita numărarea de două ori a aceluiași eritrocit, elementele situate pe intersecții pe latura de jos și din dreapta nu se numără.

Calculul. Numărul eritrocitelor în 1 litru de sânge se calculează după formula:

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200 \cdot 10^6}{80}$$, unde:

X - numărul de eritrocite în 1 L de sânge;

a - suma eritrocitelor numărate în 5 pătrate mari (80 mici);

4000 - înmulţitor, ce exprimă rezultatul într-un microlitru de sânge, fiindcă volumul unui pătrăţel mic e de 1/4000 µl;

200 - diluţia sângelui; 80 - numărul de pătrate mici numărate;

10^6 - numărul de microlitri în 1 L.

Practic, cifra de eritrocite găsită pe 80 pătrăţele mici se înmulţeşte cu 10^{10} şi aflăm numărul de eritrocite în 1L de sânge.

Erori în numărătoarea eritrocitelor:

1. La recoltarea sângelui: înţepătură superficială sau în regiuni puţin vascularizate; stoarcerea degetului, ceea ce duce la diluţia sângelui; erori de pipetare şi diluare.
2. Formarea chiagurilor de sânge, care reţinând o parte de elemente, duce la un rezultat micşorat de eritrocite.
3. Nerespectarea condiţiilor, care asigură înălţimea corectă a camerei din cauza păsuirii inerente a lamelei de acoperire. De asemenea are importanţă grosimea lamelei de acoperire (ea trebuie să fie nu mai mică de 0,3 mm).
4. Numărarea inoportună a elementelor imediat după umplerea camerei, fără a aştepta 1 minută; în acest caz eritrocitele nu dovedesc să se sedimenteze pe cadrilajul camerei. Rezultatele obţinute vor fi mai joase.
5. Numărarea unui număr mai mic de pătrăţele de pe cadrilajul camerei.
6. Spălarea defectuoasă a materialului folosit; utilizarea pipetelor şi eprubetelor umede.
7. Utilizarea reactivilor necalitativi pentru diluţie ce poate cauza hemoliză eritrocitelor.

Valori normale: bărbaţi - 4,0-5,0 x 10^{12} pe litru; femei - 3,7- 4,7 x 10^{12} pe litru.

Notă: 1. În anemii hemolitice şi pernicioase numărătoarea eritrocitelor se va face imediat după recoltarea sângelui, fiindcă la păstrare eritrocitele se hemolizează rapid.

2. Pentru obţinerea unui rezultat mai exact se vor număra eritrocitele în 2 celule diferite şi se va calcula media aritmetică a rezultatelor celor două numărători.

2.2 Numărătoarea reticulocitelor la colorarea cu albastru briliant de crezil, azur I sau azur II direct pe lamă sau în eprubetă

Principiu. Evidenţierea substanţei granulo-filamentoase din eritrocitele tinere prin coloraţii vitale în care sângele recoltat, fără să fie fixat, se pune în contact cu coloranţii alcalini. Numărătoarea reticulocitelor se face în frotiuri sanguine.

Reactivi. Poate fi folosit unul din coloranţii :

1. Albastru briliant de crezil soluţie saturată în alcool absolut (1,2 g colorant în 100 cm^3 alcool).
2. Soluţie azur I :

azur I - 1,0 g,
NaCl - 0,8 g,
oxalat de amoniu - 0,4 g,
alcool etilic 96° - 10,0 cm^3,
apă distilată - 90,0 cm^3.

Amestecul obţinut în sticluţe bine închise cu un dop rodat se lasă în termostat pe 2-3 zile la temperatura 37 °C, periodic sticluţa se agită energic. Apoi colorantul se răceşte la temperatura încăperii, se filtrează prin hârtie de filtru. Se păstrează în sticle întunecate.

3. Soluţia azur II:

azur II - 1,0 g,
citrat de sodiu - 5,0 g,
clorură de sodiu - 0,4 g,
apă distilată - 45,0 cm^3.

Soluția obținută se lasă la 37 °C pe 2 zile și se agită periodic. Pentru a accelera dizolvarea colorantului, amestecul poate fi încălzit la un foc slab, evitând fierberea, timp de 15-20 minute. Se răcește până la temperatura camerei și se filtrează. Se păstrează într-un vas întunecat.

Utilaj special:

- eprubete de dimensiunile 10 cm x 1 cm.
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200-1,000 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040-0,200 cm^3;
- pipete tip Pancenkov cu diviziuni milimetrice de la 0 la 100;
- microscop.

Tehnica colorației direct pe lamă.

Se întinde un frotiu din una din soluțiile sus numite pe o lamă bine degrasată, uscată și încălzită la flacăra spirtierei se usucă. Așa frotiuri pot fi preparate din timp în număr mare. Apoi pe această lamă se întinde o picătură de sânge ca pentru orice frotiu. Se pune în camera umedă pe 3-5 minute, apoi se usucă la aer. Camera umedă poate fi o cutie Petri cu un sul de tifon umezit de jur-împrejur cu capac. Eritrocitele se colorează în galben-verzui, iar substanța granulo-filamentoasă în albastru.

Tehnica colorației în eprubetă.

Metoda I. Într-o eprubetă 10x1,0 cm se pipetează 0,04 cm^3 soluție de lucru de albastru briliant crezil (se prepară ex tempore adăugând la o picătură de oxalat de potasiu de 1% 4 picături soluție de colorant) și se adaugă 0,04 cm^3 sânge. Amestecul se omogenează minuțios, dar foarte ușor. După un contact de 30 minute se întind frotiuri subțiri pe lamă, după omogenizarea sedimentului.

Metoda II. La 0,05 cm^3 colorant azur II se adaugă 0,2 cm^3 sânge proaspăt. Amestecul se agită minuțios, dar ușor. Peste 20-30 minute se întind frotiuri subțiri. Eritrocitele se colorează în galben-verzui, substanța granulo-filamentoasă - albastru.

Metoda III. Într-o eprubetă se pipetează 0,3-0,5 cm^3 soluție colorant azur I și se picură cu pipeta Pancenkov 5-6 picături de sânge. Eprubeta se închide cu un dop din cauciuc, se agită ușor. După un contact de 1-1,5 ore sedimentul se omogenizeaza și se întind frotiuri subțiri. Eritrocitele se coloreaza în galben-verzui, substanța granulofilamentoasa - violet-albastru.

Frotiurile se examinează cu obiectivul cu imersie indiferent de metoda de colorație. Se numără reticulocitele întâlnite la 1000 de eritrocite. Pentru ușurarea numărătorii se aplică în diafragma ocularului o rondelă de hârtie cu o fereastră tăiată în pătrățel, pentru limitarea câmpului microscopic. Pentru o mai mare precizie pot fi numărate reticulocitele întâlnite la 2000-3000 de eritrocite. În mod normal numărul reticulocitelor variază între 2-10 ‰.

2.3 Numărătoarea trombocitelor

2.3.1 Numărătoarea trombocitelor prin metode directe în camere de numărat

Principiu. Se bazează pe numărătoarea trombocitelor, diluate într-o proporție cunoscută și într-un volum cunoscut al camerei de numărat. Se folosește microscopul în contrast de fază.

Reactivi. Soluție 1:

Clorhidrat de cocaină - 3 g Clorură de sodiu - 0,25 g

Furacilină - 0,025 g

Apă distilată - 100 cm^3

Soluție 2:

Oxalat de amoniu 1%. Soluția se fierbe și se filtrează. Se păstrează la frigider.

Utilaj special.

- eprubete de dimensiunile 10 cm x 1 cm.
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200-1,000 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040-0,200 cm^3;
- microscop;
- dispozitiv pentru a obține contrast de fază;

- cameră de numărat Goreaev;
- lampă de iluminare pentru microscop.

Obținerea efectului în contrast de fază - conform instrucțiunii anexate la dispozitiv.

Tehnica de lucru. Într-o eprubetă se pipetează 4 cm^3 soluție 1 sau 2. Se adaugă 0,02 cm^3 sânge recoltat din pulpa degetului. Se așteaptă 25-30 minute pentru liza eritrocitelor. Se agită bine conținutul eprubetei și se umple camera de numărat Goreaev, care se pune în camera umedă. Peste 5 minute se numără trombocitele în 25 pătrate mari.

Calcul. Numărătoarea trombocitelor în 1 litru de sânge se face după formula :

$$x = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200}{400} \cdot 10^6$$, în care

a - numărul trombocitelor în 25 pătrate mari (400 pătrățele mici);

200 - diluția sângelui;

4000 - înmulțitor ce exprimă rezultatul în 1 μl de sânge, fiindcă volumul unui pătrat mic este egal cu 1/4000 μl;

400 - numărul pătratelor mici numărate;

10^6 - numărul de μl în 1 litru.

Dacă simplificăm calculele atunci numărul trombocitelor numărate în 400 pătrate mici se înmulțește cu 2000 și apoi cu 10^6. În mod normal numărul trombocitelor variază la maturi de la 180 x 10^9 până la 320 x 10^9 / litru de sânge.

2.3.2 Numărătoarea trombocitelor în frotiu

Principiu. Metoda este bazată pe determinarea cantității de trombocite în frotiuri colorate la 1000 eritrocite.

Reactivi :

1. Sulfat de magneziu 14% ;
2. Soluție apoasă de EDTA 6%;

Utilaj:

1. Microscop;
2. Eprubete 10 cm x 1,0 cm;
3. Micropipete Pancenkov.

Tehnica de lucru. Cu capilarul Pancenkov se i-a soluție de sulfat de magneziu 14% sau EDTA până la diviziunea «75» și se introduce într-o eprubetă 10 cm x 1,0 cm. În aceeași eprubetă se adaugă sânge din capilarul Pancenkov, luat până la diviziunea «O». Conținutul eprubetei se agită și din amestec se pregătesc frotiuri subțiri, care se fixează și se vopsesc după metoda Romanovski- Giemza.

Calculul. Numărul de trombocite la 1000 eritrocite. Se socot numărul de trombocite în 1 l de sânge, știind cantitatea absolută de eritrocite într-un l de sânge.

Valori normale: Într-un 1 l de sânge se conțin 180 x 10^9 - 300 x 10^9 de trombocite.

Notă. Atunci când se utilizează în calitate de stabilizator soluția de sulfat de magneziu durata de vopsire va constitui 2-3 ore, iar când se folosește EDTA - numai 30-45 minute.

2.4 Numărătoarea leucocitelor

2.4.1 Numărătoarea leucocitelor în camera de numărat.

Principiu. Se bazează pe numărarea leucocitelor în 1 litru de sânge, diluate într-o proporție cunoscută și într-un volum stabil al camerei.

Reactivi.

Soluție de acid acetic 3-5% colorată cu câteva picături de albastru de metilen de 1%.

Utilaj:

Microscop.

Camera Goreaev.

Eprubete 10 cm x 1,0 cm.

Tehnica de lucru. Într-o eprubeta se introduce 0,4 cm^3 acid acetic de 3-5%. Se recoltează sângele în pipeta capilară Sali de 0,02 cm^3 până la unica diviziune a pipetei. Se șterge exteriorul pipetei și se suflă sângele la fundul eprubetei. Se clătește pipeta de 2-3 ori cu lichidul de la suprafață. Se omogenează

conţinutul eprubetei şi se umple camera de numărat.

Umplerea camerei de numărat: vezi numărătoarea de eritrocite.

Se examinează camera la microscop (obiectivul x8, ocularul x15, lumină slabă) şi se numără leucocitele în 100 pătrate mari ceea ce corespunde la 1000 pătrate mici (100 x 16=1600).

Calculul. Nu:.ărul leucocitelor în 1 litru de sânge se calculează după formula:

$$x = \frac{a \cdot 250 \cdot 20}{1100} \cdot 10^9 \text{, unde}$$

a - suma leucocitelor numărate în 100 pătrate mari;

100 - înmulţitor ce exprimă rezultatul într-un microlitru de sânge, volumul unui pătrat mic e de 1/250 µl;

20 - diluţia sângelui;

250 - numărul pătratelor mici numărate;

10^6 - numărul de microlitri, în 1 litru.

Mai simplu, numărul leucocitelor numărate se înmulţeşte cu 50 şi cu 10^6.

Valori normale: numărul leucocitelor variază la adulţi de la 4 x 10^9/l până la 9 x 10^9 / litru de sânge.

Erorile de determinare sunt descrise la numărătoarea eritrocitelor.

2.5 Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH).

2.5.1 Metoda Pancenkov.

Principiu. Sângele fiind tratat cu un anticoagulant şi lăsat în repaus, se desparte în 2 straturi: superior - plasma, inferior - hematiile (eritrocitele). Eritrocitele se sedimentează după un timp variabil depinzând de proprietăţile fizice şi chimice ale sângelui.

Reactivi.

1.Soluţie citrat trisodic 5%. Soluţia se filtrează. Are un pH-neutru sau slab - alcalin.

Reactivul nu este stabil.

Utilaj:

1.Eprubete 10 cm x 1,0 cm.

2.Aparat Pancenkov constituit din stativ în partea inferioară a căruia sunt dopuri de cauciuc pentru fixarea pipetelor speciale cu diametrul intern de 1 mm. Pipetele au diviziuni milimetrice de la «0» până la «100» (10 cm). Peste fiecare 10 diviziuni sunt notate cifrele 10, 20, 30 etc. până la 100. Diviziunea «0» este completată de litera K (sânge), iar diviziunea 50 de litera P (reactiv). Pipetele şi eprubetele trebuie să fie curate (spălate cu soluţie de bicarbonat şi uscate.

Tehnica de lucru. În pipeta capilară gradată (Pancenkov) prealabil spălată cu sol. citrat trisodic se aspiră acest reactiv până la diviziunea 50 «P» şi se suflă într-o eprubetă. Se aspiră imediat cu aceiaşi pipetă sânge până la diviziunea «0» de 2 ori şi se adaugă în aceiaşi eprubetă. Se amestecă. Se aspiră amestecul în pipeta Pancenkov până la diviziunea «0» apoi se astupă cu degetul arătător partea de sus pentru a opri pe loc coloana de sânge. Vîrful pipetei se aplică pe dopul de cauciuc de la partea inferioară a stativului, iar capătul superior al pipetei se fixează în partea de sus a stativului. Pipeta trebuie să fie în poziţie perfect verticală. Se notează ora. Rezultatul se citeşte peste o oră. Se exprimă în milimetri pe oră.

Valori normale la adulţi:

bărbaţi - 1-10 mm/oră;

femei - 2-15 mm/ora.

Variaţii fiziologice: La femei, în timpul menstruaţiei viteza creşte; valori crescute se întâlnesc în sarcină, mai ales în ultimele luni; la copii viteza este ceva mai mare decât la adulţi.

Surse de erori:

1. Nerespectarea raportului 1:4 între reactiv şi sânge;
2. Coagularea sângelui, dacă nu va fi bine omogenizat;
3. Poziţia capilarului trebuie să fie verticală, în tuburi înclinate viteza de sedimentare creşte;
4. Temperatura mediului mai mare de 20 °C grăbeşte sedimentarea, mai mică de 20 °C o încetineşte; între 20 şi 27 °C variaţiile sunt de mică importanţă şi determinarea se poate face la t° camerei. În alte condiţii de temperatură cu variaţii mari se recomandă ca stativul cu tubul să se introducă în termostat cu

temperatura constantă de 20 °C.

5. În cazul bolnavilor cu crioglobulinemie, VSH efectuat la t° camerei poate să dea erori mari, datorită împiedicării sedimentării eritrocitelor prin gelificarea plasmei simulând viteze normale sau uşor crescute. În astfel de împrejurări stativul cu tubul de VSH trebuie menţinut la temperatura de 37 °C care prin împiedicarea crioprecipitării dă valorile reale în astfel de cazuri. Determinarea trebuie să se facă imediat după recoltarea sângelui, orice întârziere poate să scadă VSH-ul.

6. Transportarea sângelui cu citrat dintr-o încăpere în altă la temperatura mai joasă de 0 °C se efectuează în învelişuri de vată.

2.6 Determinarea rezistenţei osmotice a eritrocitelor

Principiu. Măsurarea gradului de hemoliză a eritrocitelor în soluţii tampon hipotonice de NaCl de o anumită concentraţie.

Reactivi:

1.Soluţie stock (care după presiunea osmotică corespunde cu cea a soluţiei de NaCl de 10%);

2. Dihidrofosfat de sodiu (Na_2HPO_4) - 27,31 g sau ($Na-_2HPO_4 \cdot 2H_20$ - 34,23 g);

3. Monohidrofosfat de sodiu ($NaH_2PO_4 .2H_20$) - 4,86 g;

4. NaCl - 180 g;

5. H_20 distilată - până la 2 l, pH - 7,4.

Soluţia stock se diluează de 10 ori. Se obţine o soluţie care corespunde concentraţiei osmotice a soluţiei de NaCl de 1% din care apoi se pregătesc mai multe diluţii: 0,85%; 0,70%; 0,65%; 0,60%; 0,55%; 0,50%; 0,45%; 0,40%; 0,35%; 0,30%; 0,20%; 0,1% NaCl. Se poate de pregătit câte 100 cm3 soluţie de lucru cu concentraţii diferite care pot fi păstrate timp de 2 săptămâni la frigider.

Utilaj special:

- eprubete cu dimensiunile 10 cm x 1 cm.
- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,200-1,000 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,040-0,200 cm^3;
- pipetă dozator cu volumul variabil 0,005-0,040 cm^3;
- pipete tip Pancenkov cu diviziuni milimetrice de la 0 la 100;
- microscop;
- fotoelectrocolorimetru;
- termostat la 37°C;

Tehnica de lucru. În 2 eprubete sterile ce conţin câte 2 picături de heparină, se adaugă câte 1,5 cm^3 sânge. O eprubetă se pune în termostat pe 24 ore, alta se foloseşte în aceiaşi zi a colectării sângelui. Într-o serie din 14 eprubete se toarnă câte 5,0 cm^3 soluţie de lucru cu concentraţiile de la 1,0% până la 0,1%. În fiecare eprubetă se adaugă câte 0,02 cm^3 sânge heparinizat, se agită bine şi se lasă nu mai puţin de 30 min la temperatura camerei (25°C). Se centrifughează 5 min la 2000 tur/min. Se transferă supernatantul în alte eprubete, care mai apoi se măsoară la fotoelectrocolorimetru la 500-560 nm (filtru verde) în cuve de 10 mm faţă de proba martor.

Proba martor - supernatantul eprubetei ce conţine 1% soluţie NaCl.

Calculul. Ca hemoliză de 100% se i-a eprubeta ce conţine soluţie 0,1% NaCl. Apoi se compară absorbţia soluţiei cu hemoliză de 100 % cu celelalte eprubete şi se calculează procentul de hemoliză în fiecare eprubetă după formula:

$$\frac{Ex \cdot 100}{E_1}$$

unde: E_1 - absorbţia supernatantului din eprubeta ce conţine 0,1% soluţie NaCl;

Ex - absorbţia probei de examinat;

100 - procentul hemolizei în eprubeta ce conţine 0,1% soluţie NaCl.

În ziua următoare, proba se repetă cu sângele incubat pe 24 ore la 37 °C.

Notă: Se determină rezistenţa osmotică în sângele incubat, deoarece în caz de anemie hemolitică, rezistenţa osmotică joasă poate fi depistată numai în sângele incubat.

2.7 Analiza morfologică a elementelor figurate ale sângelui şi calculul diferenţiat al formulei leucocitare

Principiu. Examenul microscopic a frotiurilor sanguine uscate, fixate şi vopsite cu descrierea morfologiei eritrocitelor şi numărarea diferenţiată a leucocitelor cu calcularea raportului lor procentual.

Etapele metodice:

1.*Prepararea lamelor din sticlă.* Lamele din sticlă trebuie să fie curate şi degresate. Pentru aceasta lamele se prelucrează în soluţie detergent 2%. La 20 g detergent se adaugă 975 g apă + 20 cm^3 perhidrol într-un vas emailat pe 8 - 10 ore, frotiul sangvin vechi se şterge cu un tampon de vată şi se fierbe nu mai mult de 5-10 minute în aceeaşi soluţie cu detergent + perhidrol pregătită în prealabil. Fierberea mai mult de 10 minute sau într-un vas de aluminiu conduce la opacitatea lamelor. Apoi lamele se spală în apă curgătoare, se şterg până la uscare şi selectiv se verifică calitatea înlăturării soluţiei cu detergent cu ajutorul soluţiei alcoolice de fenolftaleină 1,0 g/l, pentru ce se aplică 2-3 picături soluţie pe lamă (culoarea roză nu trebuie să apară). Lamele spălate se introduc în amestecul Nikiforov (alcool etilic 96 ^{0}şi eter dietilic în raport de 1:1) şi se păstrează într-un vas curat cu capac.

2.Fixarea frotiului-amprentă.

Reactivi: alcool metilic sau soluţie alcoolică eozin de metilen albastru May - Grunwald. În lipsa acestor fixatori, frotiile-amprentă se expun 35 minute în alcool etilic 96 ^{0}.

Echipament: pensă, suport pentru uscarea frotiilor-amprentă, borcan cu dop şlefuit.

Fixarea. Frotiile-amprentă uscate la aer se introduc în borcan cu fixator pe 5-10 minute. Apoi se scot din vas cu ajutorul pensei şi se usucă la aer. Pentru fixare se aleg frotiile-amprentă corect preparate: frotiul trebuie să aibă o culoare gălbuie, în lăţime să fie amplasat la o distanţă de 1-3 mm de la marginea lamei şi să se termine în lungime cu o «măturiţă», neajungând cu 1,5 - 2 cm până la capătul lamei.

3. Vopsirea frotiului-amprentă. Pentru a colora preparatul se foloseşte un colorant alcătuit din două componente - acidă (eozină) şi bazică (albastru de metilen şi derivaţii săi - azur I sau azur II).

Colorantul ce conţine azur-eozină posedă o sensibilitate înaltă la pH-ul apei. Apa pentru prepararea frotiurilor şi spălare trebuie să aibă un pH neutru. În cazul când reacţia colorantului este acidă celulele mult timp nu se colorează şi au o nuanţă roşietică, în cazul reacţiei bazice - erirocitele se vopsesc într-o culoare gri-albastră, iar nucleul şi citoplasma leucocitelor- în culori foarte întunecate.

a) Coloraţia Noht.

Reactivi:

a) Sol. stock azur II 1 g/l : 1,0 g azur II se dizolvă în 1000 cm^3 de apă distilată;

b) Sol. stock eozină K, 1,0 g/l : 1,0 g de eozină K se dizolvă în 1000 cm^3 apă distilată.

Soluţiile stock sunt bune pentru folosire după 14 zile de păstrare la temperatura camerei în veselă din sticlă brună cu dop rodat.

2. Soluţie tampon fosfat (amestecul Veize), pH 7,4 - 7,5 .

Fosfat monopotasic (KH_2PO_4) - 0,49 g .

Fosfat disodic (Na_2HPO_4 $2H_2O$) - 1,14 g sau fosfat disodic (Na_2HPO_4) - 0,909 g.

Apa distilata - 1000 cm^3.

3. Soluţia de lucru: se pregăteşte *ex tempore* un amestec din 25 cm^3 soluţie stock azur II, 20 cm^3 soluţie stock eozină K şi 55 cm^3 soluţie tampon fosfat. Proporţiile de coloranţi pot să varieze, acestea fiind stabilite experimental, când se prepară soluţii proaspete de colorant.

Vopsirea frotiurilor. Frotiurile-amprentă fixate se introduc într-un container-suport special, ultimul se afundă într-o cuvă cu soluţie de colorant şi se lasă un timp strict limitat de la 20 până la 50 minute. Containerul se transferă în altă cuvă cu apă de robinet, apoi frotiurile se aşează vertical la uscat pe un suport. Dacă lipseşte containerul-suport, atunci frotiurile după fixare şi uscare se vopsesc fiind plasate pe aşa numitele "şine" - construcţie formată din două pipete de sticlă unite între ele cu tuburi de cauciuc. În acest caz frotiurile se acoperă cu un strat gros (3-4 cm^3) de soluţie de colorant.

b) Colorația Pappenheim.

Reactivi: Soluție de eozină metilen albastru May-Grunwald. Dacă soluția aceasta lipsește, atunci se prepară 5 g/l soluție, diluând 5g colorant May-Grunwald praf uscat în 1000 cm^3 alcool metilic. Soluția este bună de lucru după 4 zile de păstrare la temperatura camerei.

2.Colorantul azur-eozină Noht.

Vopsirea frotiurilor. Frotiurile uscate, nefixate se introduc în container, care apoi se afundă pe 5 min într-o cuvă cu soluție colorant May-Grunwald. Apoi containerul cu frotiuri se spală într-o cuvă cu apă distilată. În continuare containerul cu frotiuri se transferă într-o cuvă cu soluție de lucru eozină-azur (după Noht) pe 8 - 15 minute. Se spală colorantul, transferând containerul într-o cuvă cu apă de robinet. Frotiurile se usucă la aer.

IV.Examenul microscopic.

Reactivi. Ulei de imersie, eter dietilic sau alcool etilic.

Echipament. Microscop, contor pentru citirea formulei leucocitare.

Tehnica de lucru. La început se examinează frotiul de sânge la microscop (obiectivul - 10x, ocular - 7x). Numărarea formulei leucocitare și aprecierea morfologică a eritrocitelor se efectuează numai în partea subțire a frotiului - amprentă, unde eritrocitele sunt așezate solitar, dar nu sub formă de "monede în stâlpișor". Apoi la marginea frotiului se aplică o picătură de ulei de imersie și se stabilește obiectivul cu imersie (dacă dispunem de un microscop monocular atunci e mai comod de folosit ocularul 7x, la cel binocular - ocularul 5x). Numărarea leucocitilor se face deplasând obiectuvul cu 2-3 câmpuri de vedere de la marginea frotiului și mișcând frotiul sub formă de zigzag (linia "Meandru"): 3-5 câmpuri de vedere de-a lungul frotiului, apoi 3-5 câmpuri de vedere sub un unghi drept spre mijlocul frotiului, apoi 3-5 câmpuri de vedere paralel cu marginea frotiului și din nou sub un unghi de 90° 3-5 câmpuri de vedere spre marginea frotiului. Astfel de mișcări vor fi efectuate până nu vor fi socotite jumătate din numărul de celule și după aceea trecem în partea opusă a frotiului și se numără altă jumătate din celule.

Aprecierea rezultatelor. Se numără numai celulele integre. În normă se depistează următoarele forme de leucocite: bazofile, eozinofile, neutrofile cu nucleu nesegmentat, neutrofile cu nucleu segmentat, monocite și limfocite. Atunci când în frotiu se depistează plasmocite, forme imature, tinere sau celule blastice, celule dificil de diferențiat, acestea trebuie să fie incluse în formula leucocitară iar morfologia lor trebuie să fie descrisă detaliat. Paralel cu numărătoarea formulei leucocitare se evaluează morfologia eritrocitelor, acordând atenția asupra anomaliilor de talie (normocite, microcite, macrocite, megalocite), anomaliilor de formă (platicite sau leptocite, ovalocite, microsferocite, celule în țintă, drepanocite - eritrocite falciforme), anomalii de colorabilitate (anizocromie, eritrocite normocrome, hipocrome, hipercrome, policromatofile), la prezența și gradul de exprimare a anizocitozei și poikilocitozei, prezența corpusculilor intracrirtocitari (punctații bazofile, corpusculi Jolly, corpusculi Heinz, inele Cabot, pulbere cromatiniană - granulații eritrocitare azurofile).

Dacă la analiza sângelui nu au fost depistate devieri cantitative în componența elementelor figurate ale sângelui, iar la numărătoarea primelor 100 de leucocite nu au fost depistate careva modificări în formula leucocitară sau morfologia eritrocitelor atunci analiza formulei leucocitare se va limita cu numărarea a 100 leucocite. Atunci când vor fi depistate devieri de la valorile normale este necesar de a număra nu mai puțin de 200 leucocite.

Formula leucocitară oferă o prezentare procentuală relativă a conținutului diferitor tipuri de leucocite. O prezentare mai precisă poate oferi calcularea valorilor absolute, adică a conținutului fiecărui tip de leucocite într-un volum de sânge.

Valorile normale:

Conținutul diferitor tipuri de leucocite în sângele periferic la persoanele adulte practic sănătoase ($X \pm 1{,}5S$)

Formele de leucocite	Conținutul în %	Numărul de celule la 1 litru sânge
Bazofile	0 - 1	$0 - 0{,}065 \times 10^9$
Eozinofile	0,5 - 5	$0{,}020 \times 10^9 - 0{,}300 \times 10^9$
Neutrofile nesegmentate	1 - 4	$0{,}040 \times 10^9 - 0{,}300 \times 10^9$
Neutrofile segmentate	47 - 72	$2{,}000 \times 10^9 - 5{,}500 \times 10^9$
Monocite	3 - 11	$0{,}090 \times 10^9 - 0{,}600 \times 10^9$
Limfocite	19 – 37	$1{,}200 \times 10^9 - 3{,}000 \times 10^9$

CAPITOLUL 3

INVESTIGAŢII BIOCHIMICE

3.1 Determinarea proteinelor totale în serul sanguin prin metoda biuretului

Principiu. Proteinele reacţionează în mediu alcalin cu sulfatul de cupru formând un compus complex de culoare roşu-violet.

Reactivi:

1. Soluţie de clorură de sodiu 0,9%.
2. Soluţie de NaOH 0,2 M, liberă de CO_2
3. Reactiv biuret: 4,50 g sare Segnet se dizolvă în 40 cm³ soluţie de NaOH 0,2 M. Se adaugă 1,50 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ şi 0,50 g iodură de potasiu. Se aduce la 100 cm³ cu soluţie de NaOH 0,2 M. Se păstrează într-un vas de sticlă brună. Soluţia este stabilă.
4. Soluţie de iodură de potasiu 0,5% în soluţie de NaOH 0,2 M. Se păstrează într-un vas de sticlă brună nu mai mult de 2 săptămâni.
5. Soluţie de lucru a reactivului biuret: 20 cm³ reactiv biuret se amestecă cu 80 cm³ soluţie iodură de potasiu. Soluţia este stabilă.
6. Soluţie standard de albumină (din ser uman sau de bovine): 100 g/l de albumină în soluţie de clorură de sodiu 0,9%; 1 cm³ soluţie conţine 0,1 g de proteină.

Toţi reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică şi apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- Fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10 nm, conform DN în vigoare;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate după GOST 1770-74 cu capacitatea 100 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnica de lucru. La 0,1 cm³ de ser se adaugă 5 cm³ reactiv biuret de lucru, se amestecă fără să se formeze spumă. Peste 30 minute (şi nu mai târziu de o oră) se citeşte absorbanţa probei faţă de martor la 540 nm în cuvă de 1 cm (filtru verde).

Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conţinut normal şi alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca şi proba de cercetat.

Martor. La 5 cm³ de reactiv de lucru biuret se adaugă 0,1 cm³ soluţie de clorură de sodiu 0,9%; în continuare se prelucrează ca şi proba de cercetat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după curba etalon.

Construirea curbei etalon. Din soluţia stoc standard se prepară soluţii standard de lucru, conform tabelei 3.1.

Tabel 3.1

Nr. d\r	Soluţie standard de proteină (cm³)	Soluţie de clorură de sodiu 0,9% (cm³)	Concentraţia proteinei în g\l
1.	0.40	0.60	40.0
2.	0.60	0.40	60.0
3.	0.80	0.20	80.0
4.	1.00	-	100.0

Din fiecare diluție se ia câte 0,1 cm^3 soluție de lucru și se adaugă câte 5 cm^3 reactiv biuret de lucru, peste 30-60 min se citește absorbanța, ca și proba de analizat față de martor. *Valori de referință*: 65,0 - 85,0 g/l.

Notă:

1. Conținutul de proteină în soluția standard trebuie să fie nu mai mică de 70 g/l.
2. Când conținutul proteinei în ser depășește 100 g/l serul trebuie diluat cu soluție fiziologică, și rezultatul se înmulțește cu coeficientul de diluție.
3. Toți reactivii trebuie să fie pregătiți pe apă distilată fiartă.

3.2 Determinarea colesterolului în serul sanguin

3.2.1 Determinarea colesterolului în serul sanguin prin metoda directă, bazată pe reacția Liebermann-Burchard (metoda Ilca)*Principiu.* Colesterolul în prezența anhidridei acetice și a amestecului de acid acetic și sulfuric capătă o culoare verde.

Reactivi:

1. Reactiv nr. 1: 1 parte de acid acetic glacial,
5 părți de anhidridă acetică,
1 parte de acid sulfuric concentrat.

Din motivul că reacția decurge cu degajare de căldură, inițial se amestecă acidul acetic cu anhidrida acetică; apoi prin răcire și agitare se adaugă foarte atent acidul sulfuric concentrat. Amestecul obținut trebuie să fie incolor sau puțin galben. Se păstrează în frigider (4- 8 ^{0}C), în vas de sticlă brună cu dop rodat.

2. Soluție standard de colesterol 4,66 mmol/l: 0,1800g de colesterol se dizolvă într-un balon cotat de 100 cm^3 în 2,5 cm^3 cloroform și se aduce pînă la cotă cu alcool absolut. Soluția pregătită se păstrează în frigider în vas de sticlă brună cu dop rodat și ermetizat adăugător cu parafină; 1 cm^3 soluție conține 4,66 mmol colesterol.

3. Alcool absolut. Pentru a obține alcool absolut se folosește sulfat de cupru anhidru de culoare albă. Sulfatul de cupru (anhidru) se obține prin uscarea $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ de culoare albastră la 120^0 C în etuvă amestecându-l periodic. Peste sulfatul de cupru anhidru se toarnă alcool 96°. Se agită minuțios și se lasă pe 3-4 zile, agitându-l în fiecare zi. Cristalele de sulfat de cupru devin albastre. Pe urmă alcoolul se decantează și se adaugă o alta porție de sulfat de cupru. Operația se efectuează pînă cînd culoarea cristalelor nu se mai schimbă. Alcoolul se decantează și se filtrează.

4. Cloroform.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 630±10 sau 690±10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- termostat cu temperatura 37±0,5 ^{0}C.

Tehnica de lucru. Se lucrează doar cu seruri nehemolizate. La 2,1 cm^3 reactiv nr.1 se adaugă 0,1 cm^3 de ser sanguin. Serul se adaugă încet, ca să se prelingă pe pereții eprubetei. Eprubetă energic se agită de 10-12 ori și se incubează în termostat 20 minute la 37° C. Se citesc absorbanțele probelor față de reactivul nr.1 la 630±10 sau 690±10 nm (filtru roșu) în cuve de 5 mm. Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conținut normal și alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca și proba de cercetat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după curba etalon.

Construirea curbei etalon. Din soluția standard stoc de colesterol se prepară soluții cu diferit grad de diluție (tabel 3.2.). Soluțiile standard de lucru se prelucrează ca și probele de analizat, se agită energic și se introduc în termostat, după aceea se citește absorbanța.

Tabel 3.2

Nr. D/r	Sol.standard de colesterol, cm^3	Cantitatea de reactiv nr.1, cm^3	Conținutul de colesterol	
			mg	mmol/l
1.	0,05	2,15	0,09	2,3
2.	0,10	2,10	0,18	4,7
3.	0,15	2,05	0,27	7,0
4.	0,20	2,00	0,36	9,3
5.	0,25	1,95	0,45	11,6

Valori de referință – 3,00-6,27 mmol/l.

Tabel 3.3.

Valorile colesterolului seric din punct de vedere al riscului de dezvoltare a bolii ischemice a inimii

Nivelul riscului	Adulți	Copii
Risc minimal:	< 5,2 mmol/l.	< 4,4 mmol/l.
Risc moderat:	5,2-6,2 mmol/l.	4,4-5,2 mmol/l.
Risc înalt:	> 6,2 mmol/l.	> 5,2 mmol/l.

3.2.2 Determinarea colesterolului total în serul sanguin prin metoda directă colorimetrică Zlatkis-Zak

Principiu. La acțiunea acidului acetic și sulfuric asupra colesterolului în prezența clorurii fierice se obține un compus complex de culoare roșie-violetă.

Reactivi.

1. Acid acetic glacial. Pentru controlul purității acidului se efectuează următoarea probă: într-o eprubetă, care conține 7-8 cm^3 acid acetic glacial, se adaugă câteva cristale de permanganat de potasiu, se amestecă și se lasă 40 minute la temperatura camerei. Dacă culoarea acidului acetic nu s-a schimbat, atunci acidul este bun pentru folosire. Pentru comparație aceeași cantitate de cristale de permanganat de potasiu se adaugă la același volum de apă (apa se colorează în roz).

2. Acid sulfuric concentrat pentru proba Savale.

3. Acid ortofosforic, concentrat.

4. Soluție stoc de clorură de fier: 2,50 g clorură de fier ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) se dizolvă prin încălzire în 80 cm^3 acid ortofosforic. Amestecul răcit se aduce la cota de 100 cm^3 cu acid ortofosforic.

5. Soluție de lucru de clorură de fier: 8 cm^3 sol. stoc de clorură de fier se amestecă atent cu 80 cm^3 acid sulfuric. Amestecul răcit se aduce la 100 cm^3 cu acid sulfuric. Se păstrează în vas întunecat.

6. Soluție stoc standard de colesterol 2,59 mmol/l: 0,1000 g colesterol se dizolvă prin încălzire în baie de apă în 70-80 cm^3 acid acetic glacial. Soluția răcită se aduce la 100 cm^3 cu acid acetic glacial; 1 cm^3 conține 2,59 mmol colesterol. Se păstrează timp de 6-7 zile la temperatura camerei.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- termostat cu temperatura 37±0,5 °C.

Tehnica de lucru. La 1 cm^3 ser se adaugă 3 cm^3 acid acetic glacial și 2 cm^3 soluție de lucru de clorură

de fier. Se agită şi se lasă la temperatura camerei timp de 15 minute, se citesc absorbanţele probelor faţă de martor la 540 nm (filtru verde) în cuve de 10 mm.

Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conţinut normal şi alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca şi proba de cercetat.

Martorul: la 0,1 cm^3 apă distilată se adaugă 3 cm^3 acid acetic glacial şi 2 cm^3 soluţie de lucru de clorură de fier. Mai departe sunt prelucrate analogic cu probele de analizat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după curba etalon.

Construirea curbei etalon. Din soluţia standard stoc se prepară diluţii, conform tabelului 3.4. După 20 minute se măsoară absorbanţele faţă de proba martor.

Tabel 3.4

Nr. d/o	Soluţia standard Stoc (cm^3)	Acid acetic glacial (cm^3)	Soluţia de lucru de clorură de fier (cm^3)	Conţinutul de colesterol (mmol/l)
1.	0,1	3,0	2,0	2,59
2.	0,2	3,0	2,0	5,18
3.	0,3	3,0	2,0	7,77
4.	0,4	3,0	2,0	10,56
5.	0,5	3,0	2,0	12,95

Valori de referinţă: 3,1 - 6,5 mmol/l.

Notă: Atunci când valorile colesterolului seric vor depăşi 9,0 mmol/l serul trebuie diluat cu soluţie fiziologică, iar rezultatele primite se vor înmulţi cu coeficientul de diluţie.

3.3 Dozarea creatininei în lichidele biologice

3.3.1 Determinarea creatininei în ser şi urină (metoda Popper)

Principiu. Creatinina reacţionează cu acidul picric în mediu alcalin formând compuşi coloraţi, intensitatea culorii este direct proporţională cu concentraţia creatininei.

Reactivi:

1. Soluţie saturată de acid picric. Acidul picric comercial are umiditatea 15-20 %, acidul nu trebue uscat! Explozibil! 2,00 g acid picric se dizolvă în 100 cm^3 apă la încălzire în baia de apă fierbinte. După aceasta soluţia se lasă pe 24 ore, periodic se amestecă. Apoi soluţia se filtrează. Este stabilă. Se păstrează în vas întunecat.

2. Soluţie standard stoc de creatinină (8,84 mmol/l): 0,1000 g creatinină se aduce la 100 cm^3 cu soluţie de acid clorhidric 0,1M. Se păstrează în frigider, în vas cu dop rodat. Pentru determinarea creatininei în ser soluţia stoc se diluează cu apă distilată de 100 ori. 1 cm^3 de soluţie standard de lucru conţine 0,0884 µmol de creatinină.

3. Soluţie de hidroxid de sodiu NaOH 10 %.

4. Soluţie de acid clorhidric 0,1 N.

Toţi reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică şi apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;

- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- baie de apă.

Tehnica de lucru. Determinarea creatininei în ser: 2,0 cm^3 ser se amestecă cu 6,0 cm^3 soluție saturată de acid picric. După 5 minute eprubetă se introduce în baia de apă clocotinda timp de 15-20 secunde, apoi se centrifughează.

La 4,0 cm^3 de supernatant se adaugă 0,2 cm^3 hidroxid de sodiu (NaOH) 10% și se agită foarte bine. Câte odată după alcalinizare soluția se tulbură din cauza precipitării fosfaților. În așa caz soluția trebuie încă o dată centrifugată. Apoi soluția se aduce la 10 cm^3 cu apă distilată.

După 10 minute se citește absorbanța în cuvă de 20 mm, la 540 nm (filtru verde) față de martor.

Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conținut normal și alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca și proba de cercetat.

Martorul: 3 cm^3 soluție saturată de acid picric și 0,2 cm^3 soluție de NaOH 10% se aduce la 10 cm^3 cu apă distilată.

Calcularea rezultatelor se face după curba etalon.

Construirea curbei etalon. Din soluția standard de lucru de creatinină se prepară diluții după tabelul 3.5. După 10 minute se citește absorbanța în aceleași condiții ca și probele.

Tabel 3.5

Nr d/o	Sol. standard de lucru de creatinină (cm^3)	Sol. acid picric (cm^3)	Sol. NaOH 10% (cm^3)	Apă dist.	Conținutul de creatinină în probă (µmol)	Concentrația de creatinină în serul sanguin (µmol/l)
1.	0,4	3,0	0,2	Până la 10 cm^3	0,03536	35,4
2.	0,8	3,0	0,2		0,07072	70,7
3.	1,6	3,0	0,2		0,14144	141,4
4.	2,4	3,0	0,2		0,21216	212,2
5.	3,2	3,0	0,2		0,28288	282.9

Determinarea creatininei în urină. Într-un balon cotat de 100 cm^3 se pipetează 0,5 cm^3 urină (din 24 de ore) și 3,0 cm^3 soluție acid picric. Amestecul se agită foarte bine și se adaugă 0,2 cm^3 NaOH 10%. Se lasă la temperatura camerei 10 minute. Apoi se aduce la 100 cm^3 cu apă distilată. Se citește absorbanța, în cuve de 10 mm la 540 nm (filtru verde) față de martor.

Martorul: 3,0 cm^3 acid picric și 0,2 cm^3 NaOH 10%, se aduc la 100 cm^3 cu apă distilată.

Proba standard. La 0,5 cm^3 soluție stoc standard (4,42 mmol creatinină) se adaugă 3 cm^3 soluție acid picric și 0,2 cm^3 NaOH 10%. Proba standard se tratează similar ca și probele de analizat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după formula:

$$X = \frac{Cst \cdot Ean \cdot a}{Est \cdot b},$$ unde

x - cantitatea de creatinină în urina din 24 ore (mmol);
Cst- cantitatea de creatinină în proba standard (mmol);
Ean - absorbanța probei de analizat;
Est - absorbanța probei standard;
a - cantitatea urinei din 24 de ore;
b - cantitatea urinei ce se ia pentru analiză.

Valori de referință: Creatinina în urina din 24 de ore - 4,42 – 19,53 mmol/l;
Creatinina în ser: femei - 44,2 – 88,4 µmol/l;
bărbați - 44,2 – 101,7 µmol/l.

Notă: 1. Dacă concentrația creatininei în ser este mai înaltă de 350 μmol/l, atunci serul se diluează cu soluție fiziologică, iar rezultatul obținut se înmulțește cu factorul de diluție.

2. Absorbanța se citește nu mai târziu de 20 min după adăugarea hidroxidului de sodiu (NaOH).

3. În calitate de conservanți pentru urină se folosesc toluen și timol, care nu împiedică determinarea creatininei.

4. Proteina nu împiedică determinarea creatininei până la concentrația de 1,5 g/l de urină. Dacă cantitatea de proteină este mai mare, atunci ea trebuie să fie înlăturată până la efectuarea analizei.

5. La determinarea creatininei în urină, începând cu absorbanța 0,22-0,25, urina trebuie diluată, iar rezultatele se înmulțesc cu factorul de diluție.

3.3.2 Micrometoda de determinare a creatininei în ser și urină

Principiul metodei de dozare a creatininei în lichidele biologice (serul sanguin, urină) se bazează pe reacția de culoare Jaffe cu sedimentarea proteinelor serului sanguin în prezența acidului tricloracetic. La interacțiunea creatininei cu picratul de sodiu se formează un compus de culoare roșu-oranj, intensitatea căruia este direct proporțională cu concentrația creatininei. Intensitatea colorației după metoda dată aproape de trei ori depășește intensitatea colorației primită prin metoda Popper clasică, cantitatea de acid picric cheltuit se reduce de 25 de ori, iar cantitatea serului sanguin se reduce de 4 ori. Pentru fiecare serie de măsurări este suficient de a utiliza o probă de control și una standard.

Reactivi:

1. Soluție de acid picric 35 mmol/l: 8,00 g de acid picric se dizolvă în 1000 cm^3 de apă distilată, se filtrează. Se păstrează în veselă din sticlă brună. Reactivul este stabil.

2. Soluție de hidroxid de sodiu 1,6 mol/l: 64,00 g NaOH (puritate chimică sau analitică) se dizolvă în 1000 cm^3 de apă distilată proaspăt pregătită. Se păstrează în veselă din masă plastică.

3. Soluție HCl 0,1 mol/l.

4. Mediul de reacție proaspăt pregătită: se amestecă o parte sol. de acid picric 35 mol/l cu o parte de soluție de NaOH 1,6 mol/l (1:1). Reactivul este stabil la 20 - 25°C la păstrarea în vas din sticlă întunecată în decurs de 5 ore.

5. Sol. de acid tricloracetic (TCA) 0,12 mol/l (sol. 20%);

6. Soluție de clorură de sodiu 0,9%;

7. Soluție standard stoc de creatinină 10 mmol/l: 0,1132 g de creatinină se dizolvă în 100 cm^3 de HCl 0,1mol/l. În 1,0 cm^3 soluție standard stoc se conține 10 μmol de creatinină. Se păstrează la frigider.

8. Soluție standard de lucru de creatinină 100 imol/l: 1 cm^3 de soluție de creatinină stoc se dizolvă de 100 ori cu apă distilată. În 1,0 cm^3 de soluție standard de lucru se conține 1 μmol de creatinină. Soluția este instabilă.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- baie de apă.

Tehnica de lucru: Se folosește numai serul proaspăt și nehemolizat. Serul poate fi păstrat nu mai mult de 24 de ore la temperatura +4°C.

Urina pentru cercetare se folosește diluată cu apă distilată de 50 sau 100 ori (1 parte de urină se dizolvă respectiv cu 49 sau 99 părți de apă distilată). În cazul prezenței în urină a cantităților considerabile de substanțe reducătoare, ele pot fi parțial înlăturate prin expunerea termică a urinei până la fierbere.

În 4 eprubete de centrifugare se adaugă:
- în prima - 0,5 cm^3 ser sanguin;
- în a doua - 0,5 cm^3 urină diluată de 50 sau 100 ori;
- în a treia - 0,5 cm^3 soluţie standard de lucru de creatinină (proba etalon);
- în a patra - 0,5 cm^3 apă distilată (proba martor).

În fiecare probă se adaugă câte 0,5 cm^3 de acid tricloracetic 1,2M şi conţinutul eprubetelor se agită viguros.

Probele cu ser se centrifughează timp de 10 min la 3000 turaţii/min, ulterior supernatantul transparent se colectează cu atenţie într-o eprubetă cotată uscată şi se completează volumul cu apă până la 1,0 cm^3. Probele cu urină, precum şi probele etalon şi martor nu se centrifughează.

Apoi în fiecare eprubetă se adaugă câte 1,0 cm^3 mediu de reacţie ce conţine acid picric 3,5 M şi soluţie de NaOH 1,6 M în raport de 1:1, pregătit ex tempore. Se amestecă minuţios şi se expune timp de 20 min la 25 °C. Măsurarea densităţii optice a probei experimentale şi etalon se efectuează la fotoelectrocolorimetru faţă de proba martor în cuve de 5 mm la 490 nm.

Dacă valoarea extincţiei probelor experimentale depăşeşte 0,5 - 0,6, atunci serul sau urina diluată se amestecă în raport 1:4 cu soluţie de NaCl 0,9% şi se repetă măsurarea. În acest caz rezultatul se înmulţeşte la 5. Reacţia este sensibilă la acţiunea temperaturii, deaceea trebuie menţinută temperatura de 25°C.

Calcularea rezultatelor concentraţiei creatininei se efectuează după curba etalon sau formulele:

în serul sanguin: $C\mu mol/l = \frac{Epr}{Est} \cdot 100;$ în urină: $C\ mmol/l = \frac{Epr}{Est} \cdot 5;$

în urina din 24 ore: $C\ mmol/24h = \frac{Epr \cdot 5 \cdot D}{Est};$

unde: *Epr* - densitatea optică a probei experimentale;
Est - densitatea optică a probei etalon;
D - volumul urinei în 24 ore (în litri).

Prin metoda dată este posibilă la fel determinarea concomitentă a creatininei în serul sanguin şi urină, iar în caz de calculare a minut diurezei se poate determina şi clearence-ul creatininei, adică starea funcţională a rinichilor - filtraţia glomerulară:

$$\text{Clearence-ul creatininei } (cm^3/min) = \frac{Ucr \cdot V}{Pcr};\ \text{unde}$$

Ucr - concentraţia creatininei în urină (mmol/l);
Pcr - concentraţia creatininei în ser (mmol/l);
V - minut diureza (cm^3/min).

Valorile de referinţă ale concentraţiei de creatinină în serul sanguin: bărbaţi - 53-97 µmol/l, femei - 44-80 µmol/l. În urină: 8,8-13,2 mmol/24 ore.

Valorile de referinţă ale clearence-ului creatininei:
bărbaţi: 98 - 156 cm^3/min (1,6 - 2,6 cm^3/sec)
femei: 95 - 160 cm^3/min (1,6 - 2,7 cm^3/sec).

3.4 Testul cu timol

Principiu. La interacţiunea serului sanguin cu sistemul tampon timol-veronal apare o turbiditate în urma formării complexului globulino-timolo-lipidic.

Reactivi: 1. Soluţie alcoolică de timol 10% : 10,00 g de timol purificat se dizolvă în alcool etilic 96° în balon cotat de 100 cm^3. Purificarea timolului: 100,00 g timol se dizolvă în 100 cm^3 de alcool etilic 96°, se filtrează. La filtrat se adaugă 1 l de apă distilată rece, se agită puternic şi se lasă pe 20 minute. Se filtrează, cristalele rămase pe filtru se spală de 2 ori cu apă distilată rece, se usucă la început pe hârtie de

filtru, pe urmă timp de 2-3 zile în exicator de asupra clorurii de calciu anhidre până la o greutate constantă.

2. Soluția tampon: 2,76 g veronal (exact) și 2,06 g medinal (veronal de sodiu) se aduc la 1l cu apă distilată. Se păstrează în frigider, la apariția sedimentului reactivul nu este bun pentru întrebuințare.

3. Soluția tampon veronal-timol, pH 7,55-7,60. Într-un balon cotat de 100 cm^3 se amestecă 80 cm^3 soluție tampon și 1,0 cm^3 soluție alcoolică de timol, se agită și se adaugă soluție tampon până la cotă. Se controlează pH-ul.

4. Soluția standard:

a) Soluție de clorură de bariu: 1,75 g clorură de bariu ($BaCl_2 .2H_20$) se aduc la 100 cm^3 cu apă distilată.

b) Acid sulfuric 0,2 N.

Suspensia de sulfat de bariu: 3 cm^3 soluție de clorură de bariu se introduc în balon cotat de 100 cm^3. Se aduce la cotă cu H_2SO_4 0,2 N la temperatura de +10 °C (la această temperatură dimensiunile particulelor de sulfat de bariu precipitat dau relativ un rezultat stabil). Suspensia de sulfat de bariu se pregătește *ex tempore*.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 630 ± 10 sau 690 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnica de lucru. La 6 cm^3 de soluție tampon veronal-timol se adaugă 0,1 cm^3 ser, se lasă pe 30 minute la temperatura camerei și se citește absorbanța la 630-690 nm (filtru roșu) față de martor, în cuve de 1 cm. Reacția se efectuează la temperatura camerei. Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conținut normal și alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca și proba de cercetat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după curba de etalonare.

Construirea curbei etalon. Din soluția standard de sulfat de bariu (suspensie) se prepară diluții care corespund unităților de turbiditate după Shank și Hoagland (S-H) conform tabelului 3.6.

Tabel 3.6.

Nr. d/r	Suspensia de $BaSO_4$ (cm^3)	Sol.H_2SO_4 0,2N (cm^3)	Unități de turbiditate (S-H)
1.	1,35	4,65	5
2.	2,70	3,30	10
3.	5,40	0,60	20

Soluțiile standard se amestecă, se agită bine și se citește imediat absorbanța la 630-690 nm (filtru roșu) în cuve de 1 cm față de apă.

Valori de referință - 0 - 4 unități (S-H)

3.5 Determinarea bilirubinei în ser după Jendrassik, Cleghorn și Grof

Principiu. La interacțiunea acidului sulfanilic cu nitritul de sodiu se formează acidul diazofenilsulfonic, care cu bilirubina directă din serul sanguin dă o culoare roz-violetă. După intensitatea culorii se determină concentrația bilirubinei directe. După adăugare la ser a reactivului cofeinic bilirubina indirectă trece în stare solubilă disociată și cu amestecul de diazoreactiv dă o culoare roz-violetă. După intensitatea culorii se determină concentrația bilirubinei totale. După diferența dintre bilirubina totală și directă se determină concentrația bilirubinei indirecte.

Reactivi:

1. Reactivul cofeinic: 5,00 g cofeină, 7,50 g benzoat de sodiu, 12,50 g acetat de sodiu ($C_2H_3O_2Na_3$ H_2O) se dizolvă în 90 cm³ apă distilată, se încălzeşte la 50-60° se agită bine. Se adaugă apă distilată până la 100 cm³. Timpul păstrării - 2 săptămâni.

2. Sol. clorură de sodiu 0,9%.

3. Diazoamestec :

a) Diazoreactiv 1: 5,00 g acid sulfanilic se dizolvă prin încălzire în 300-400 cm³ apă distilată, se adaugă 15 cm³ acid clorhidric concentrat cu greutatea specifică 1,19. Dacă acidul sulfanilic nu se dizolvă complet balonul se pune în apă caldă şi se agită permanent. Numai după dizolvarea completă a acidului sulfanilic se adaugă apă până la 1 l. Reactivul e stabil. Se păstrează în vas de sticlă brună;

b) Diazoreactiv II: soluţie nitrat de sodiu ($NaNO_2$) 0,5%. Reactivul se păstrează în vas de sticlă brună 2-3 săptămâni. Primul semn de inutilizabilitate este apariţia unei nuanţe gălbui. Înainte de lucru se amestecă 10 cm³ de diazoreactiv I şi 0,3 cm³ de diazoreactiv II.

Toţi reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică şi apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 şi 1000± 0,5 cm³ ;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm³ ;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm³ ;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnica de lucru. În 3 eprubete (pentru bilirubina totală, directă şi martor) se introduc reactivi conform tabelului 3.7:

Tabel 3.7.

Ingredienţi (cm³)	Bilirubina totală	Bilirubina directă	Martor
Ser sanguin	0,5	0,5	0,5
Reactiv cofeinic	1,75	-	1,75
Sol.NaCL 0,9%	-	1,75	-
Diazoamestec	0,25	0,25	0,25

Pentru determinarea bilirubinei directe se citeşte absorbanţa după 5-10 minute de la adăugarea diazoamestecului, fiindcă la o expunere mai îndelungată în reacţie întra şi bilirubina indirectă.

Pentru determinarea bilirubinei totale proba pentru dezvoltarea culorii se lasă la temperatura camerei 20 minute după ce proba se colorimetrează. La expunerea ulterioară culoarea nu se schimbă. Se citeşte absorbanţa faţă de apă în cuva de 0,5 cm la 540 nm (filtru verde).

Din indicii primiţi la colorimetrarea bilirubinei totale şi directe se scad valorile martorului.

Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conţinut normal şi alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca şi proba de cercetat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după curba etalon. Se determină concentraţia bilirubinei totale şi directe. Diferenţa dintre bilirubina totală şi cea directă este egală cu concentraţia bilirubinei indirecte.

Construirea curbei etalon se efectuează cu standardul de bilirubină.

Norma: bilirubina totală - 8,5 - 20 μmol/l, din care 75% revine bilirubinei indirecte.

Metoda II Curba etalon se construieşte după setul de reactivi bilirubină- etalon liofilizat "Lahema" Cehia. Setul Bio-La-Test "Bilirubină-etalon" conţine:

1. Bilirubină liofilizată (mg/100 cm^3),

2. Albumină liofilizată.

Pregătirea soluțiilor de lucru.

Soluție etalon de bilirubină. De pe flacon se scoate capacul de metal și cu un ac subțire pentru injecție se dă drumul aerului prin dopul de gumă. Apoi se înlătură atent dopul de gumă și se adaugă 4,0 cm^3 apă distilată. Flaconașul se astupă și se agită atent până la dizolvarea completă a liofilizatului. Soluția-etalon pregătită în așa fel conține cantitatea de bilirubină care este indicată pe eticheta flaconului (mg/100 cm^3). Soluția de bilirubină este instabilă și trebuie protejată de razele solare. Soluția trebuie folosită nu mai târziu de 2 ore din momentul pregătirii.

Soluția de albumină pentru diluție

În flaconașul cu albumină se introduce aer cu un ac subțire de seringă, se înlătură dopul de gumă, se adaugă 8 cm^3 apă distilată. Flaconașul iarăși se închide și atent se agită, dizolvând liofilizatul. Pregătită în așa fel soluția pentru diluție conține 2 g albumină la 100 cm^3. Soluția se păstrează în frigider. Dacă la dizolvarea liofilizatului se formează spumă, atunci se adaugă o picătură de eter sau alcool octilic.

Pregătirea soluțiilor etalon diluate

Soluțiile etalon diluate de bilirubină pentru curba etalon se prepară în conformitate cu tabelul 3.8.

Tabel 3.8.

Nr d/r	Soluția standard de bilirubină (μmol/l) în cm^3	Soluția de albumină (cm^3)	Concentrația de bilirubină (μmol/l)
1.	0,100	1,90	0,050 . a
2.	0,25	1,75	0,125 . a
3.	0,50	1,50	0,250 . a
4.	0,75	1,25	0,375 . a
5.	1,00	1,00	0,500 . a

Notă: a - concentrația de bilirubină indicată pe eticheta flaconașului.

Din soluțiile etalon diluate se ia câte 0,5 cm^3, se adaugă 1,75 cm^3 reactiv cofeinic și 0,25 cm^3 diazoamestec. După 20 minute se citește absorbanța în aceleași condiții ca și probele de analizat.

Valori de referință. Bilirubina totală constituie 8,5 - 20 μmol/l. Din această cantitate 75% revine bilirubinei indirecte.

Notă:

1. Serul nu trebuie să fie hemolizat.

2. Înainte de determinarea bilirubinei, pacientul trebuie să evite folosirea medicamentelor și alimentelor (morcov, caise, portocale) care provoacă colorația artificială a serului și nu trebuie să utilizeze vitamina "C".

3.6 Determinarea transaminazelor în ser prin metoda Reitman și Frankel

Principiu. În rezultatul transaminării care se petrece sub acțiunea AST și ALT, se formează acidul oxalilacetic și piruvic. Acidul oxalilacetic are proprietatea de a se transforma în acid piruvic. După adăugarea 2,4-dinitrofenilhidrazinei în mediu bazic se formează hidrazonul colorat al acidului piruvic, intensitatea căruia este direct proporțională cu cantitatea de acid piruvic format.

Reactivi :

1. Sol.tampon fosfat 0,1 M, pH 7,4: 17,40 g fosfat disodic ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) se aduce până la 1 l cu apă distilată. Se ia 13,60 g fosfat monopotasic (KH_2PO_4) și se adaugă apă distilată până la 1 l. Fosfatul disodic - $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, care conține 2 molecule de apă, se obține prin uscare la aer (timp de 2 zile) a sării cristaline, care conține de obicei 12 molecule de apă. Sarea în prealabil este mojarată într-o piuliță până la praf. Pentru obținerea sol.tampon fosfat, pH 7,4, se amestecă 840 cm^3 soluție $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 0,1 M și 160 cm^3 soluție KH_2PO_4 0,1 M. pH-ul se măsoară cu pH-metrul. La soluția obținută se poate adăuga în calitate de conservant 5-10 cm^3 cloroform.

2. Substrat pentru determinarea aspartat aminotransferazei: 29,20 mg acid alfa-cetoglutaric şi 2,66 g acid-DL-asparagic* se cântăresc pe un cântar analitic şi se dizolvă în soluţie hidroxid de sodiu 1 M. Hidroxidul de sodiu trebuie adăugat atent în porţii mici, până la dizolvarea completă a acizilor şi obţinerea pH 7,4. Soluţia se transferă cantitativ într-un balon cotat de 100 cm^3, clătind cu soluţie tampon fosfat 0,1 M, pH 7,4. Se adaugă sol. tampon în balon până la semn, se agită bine, se adaugă o picătură de cloroform şi se păstrează în congelator. Înainte de a fi folosită, soluţia îngheţată trebuie să se dezgheţe complet.

3. Substrat pentru determinarea alanin-aminotransferazei:

29,20 mg acid alfa-cetoglutaric şi 1,78 g DL-alanină* se cîntăresc la cîntarul analitic. Mai departe totul se face similar ca pentru primul substrat (reactiv 2).

---

* Dacă se foloseşte nu acid DL-asparagic, dar acidul L-asparagic, iar DL-alanina este înlocuită cu L-alanină, atunci cantitatea acestor reagenţi se micşorează de două ori.

4. Soluţie de 2,4-dinitrofenilhidrazină: 19,80 mg de 2,4-dinitrofenilhidrazină se dizolvă într-o cantitate mică de sol. acid clorhidric 1M la încălzire în baia de apă. După ce soluţia se răceşte volumul se aduce cu acid clorhidric la 100 cm^3. A doua zi soluţia se filtrează. Se păstrează într-un vas întunecat la frigider. Termenul de păstrare 1 an.

5. Sol. NaOH 0,4N liberă de carbonaţi. Sticlele cu reactiv şi apă distilată se astupă cu dopuri cu tuburi de absorbţie umplute cu calce sodată sau hidroxid de bariu.

6. Soluţie standard piruvat de sodiu ($CH_3COCOONa$): 0,0110 g piruvat de sodiu cristalin (de culoare albă) se dizolvă într-o cantitate mică de apă distilată, se transferă într-un balon cotat de 100 cm^3 şi se aduce volumul soluţiei până la semn. Într-un cm^3 soluţie se conţine 110 µg piruvat de sodiu; ce corespunde la 88 µg de acid piruvic.

Toţi reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică şi apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 şi 1000± 0,5 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnica determinării AST. În eprubetă se introduce 0,5 cm^3 substrat pentru determinarea AST, se încălzeşte la 37°C 5 minute. Se adaugă 0,1 cm^3 ser şi se incubează la 37°C 60 minute. Pe urmă se adaugă 0,5 cm^3 soluţie 2,4 dinitrofenilhidrazină, se lasă la temperatura camerei 20 minute. Se adaugă 5 cm^3 de NaOH 0,4 M, se agită minuţios şi se lasă pentru dezvoltarea culorii la temperatura camerei pe 10 minute. Se măsoară absorbanta probei faţă de martor la 540 nm (filtru verde) în cuva de 1 cm.

Martorul se pregăteşte la fel ca şi proba de analizat, dar soluţia de 2,4-dinitrofenilhidrazină se adaugă până la incubare.

Tehnica determinării ALT. În eprubetă se introduc 0,5 cm^3 substrat pentru determinarea ALT şi se încălzeşte la temperatura 37°C 5 minute. Se adaugă 0,1 cm^3 ser şi se incubează la 37°C 30 minute. Mersul de mai departe al analizei este identic ca şi la determinarea AST.

Calcularea rezultatelor activității enzimelor în serul sanguin se efectuează după curba etalon.

Construirea curbei etalon. Din soluția standard se prepară un șir de diluții, precum este indicat în tabelul 3.9.

Tabel 3.9.

Nr.d/r	Soluția standard de piruvat de sodiu (cm^3)	Apă dist.(cm^3)	Acid piruvic (µmol/l)	Cantitatea de acid piruvic, (mmol/l.h)	
				AST	ALT
1.	0,05	0,55	0,05	0,5	1,0
2.	0,10	0,50	0,10	1,0	2,0
3.	0,15	0,45	0,15	1,5	3,0
4.	0,20	0,40	0,20	2,0	4,0
5.	0,25	0,35	0,25	2,5	5,0

În eprubete se adaugă câte 0,5 cm^3 soluție 2,4-dinitrofenilhidrazină, mai departe probele se prelucrează ca și probele de analizat. Martorul se efectuează ca și proba standard, însă în loc de acid piruvic se adaugă apă distilată.

Valori de referință:

AST - 28 – 125 nmol/ l.s (0,1-0,45 mmoli acid piruvic la 1 l ser la o oră incubare la 37 °C).

ALT - 28 – 189 nmol/l.s (0,1-0,68 mmoli acid piruvic la 1 l ser la o oră incubare la 37 °C.)

Notă:

1. Serul trebuie să fie fără urme de hemoliză. La păstrarea serului în frigider timp de 1-2 zile activitatea enzimatică nu se micșorează.

2. Începând cu valorile absorbanții mai mari de 0,300 graficul de etalonare se abate de la linia dreaptă. În scopul păstrării proporționalității directe între concentrația de substanță și absorbantă, când absorbanta probei este mai mare de 0,300, serul trebuie diluat cu ser inactivat sau sol. albumină 5%, pregătită pe soluție fiziologică. Rezultatul se înmulțește la gradul de diluție.

3.7 Determinarea activității á-amilazei (EC 3.2.1.1.) în serul sanguin și urină prin metoda amiloclastică

Principiul. Se bazează pe determinarea fotometrică a scăderii concentrației de amidon în rezultatul hidrolizei enzimatice.

Reactivi:

1. Substrat-amidon. Se folosește amidon hidrosolubil uscat la temperatura de 110°C până la o masă constantă (amidon pentru colorimetrie): 0,200 g amidon se trece în suspensie într-un cm^3 de apă distilată răcită, apoi se adaugă 6-7 cm^3 de apă distilată fierbinte; balonul conic se afundă într-o baie de apă clocotindă până la dizolvarea completă a amidonului și se aduce cu apă distilată la 10 cm^3. Substratul trebuie să fie transparent. Se pregătește zilnic, deoarece în el se dezvoltă rapid bacteriile și ciupercile.

2. Tampon fosfat, 0,1 M, pH-7,2 se pregătește zilnic: 72 cm^3 de sol. fosfat disodic 0,1M (17,40 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ se aduc la 1 l cu H_2O) se amestecă cu 28 cm^3 sol. de fosfat monopotasic 0,1M (13,60 g KH_2PO_4 se aduc cu apă distilată la 1 l). Soluțiile se păstrează la frigider (4-8 °C) timp de 10-15 zile.

3. Soluție de clorură de sodiu 3%.

4. Soluție de acid clorhidric 1 M.

5. Soluție de iod 0,1N. Se dizolvă 30,00 g de iodură de potasiu (KI) în 250 cm^3 de apă distilată apoi se adaugă 12,70 g de iod cristalin și se aduce volumul până la 1 l. Se păstrează în vas din sticlă brună. Soluția este stabilă.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 630 ± 10 sau 690 ± 10;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;

- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 și 1000± 0,5 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- baie cu apă.

Tehnica de lucru. 0,5 cm^3 soluție de amidon, încălzită până la 90°C se amestecă cu 0,3 cm^3 tampon fosfat și cu 0,1 cm^3 soluție NaCl 3%. După 10 min de încălzire la 37 °C se adaugă 0,1 cm^3 ser sanguin sau 0,1 cm^3 de urină filtrată diluată în proporția 1:10 sau 1:100.

Se agită minuțios și se incubează la 37 °C timp de 30 min. Incubația este stopată prin adăugare de 0,1 cm^3 sol. HCl 1 M. Apoi se transferă 0,2 cm^3 din conținutul eprubetei într-un balon cotat de 50 cm^3. Se adaugă aproximativ 40 cm^3 H_2O, 0,5 cm^3 sol. HCl 1M și 0,1 cm^3 soluție de iod și se aduce la cotă cu apă distilată. Paralel se prelucrează proba martor pentru determinarea extincției inițiale a amidonului întrodus în amestecul de reacție. Proba martor se efectuează ca și cea de analizat, dar acidul clorhidric se adaugă până la incubație. Proba de analizat și proba martor se măsoară imediat la 630-690 nm (filtru roșu) în cuva de 10 mm față de apa distilată.

Calcularea rezultatelor se efectuează după formula:

$$\frac{Amartor - Aproba \cdot 10 \cdot 20}{Amartor} = \text{cantitatea de amidon în g}$$

hidrolizat de 1 litru de ser sanguin sau 1 l de urină la incubarea la 37°C timp de o oră, unde:

A – absorbanța;

10 – cantitatea de amidon în mg, luată în proba de analizat și proba martor;

20 – coeficientul de calculare la 1 l de ser sanguin sau urină la 1 h de incubație.

La calcularea activității enzimei în urină rezultatul se înmulțește la diluția urinii.

Valorile normale ale activității enzimei în serul sanguin constituie – 16-30 g/l.h, în urină până la 160 g/l.h de amidon hidrolizat.

Notă:

1. Pentru dozarea α-amilazei se recomandă de a folosi ser sanguin și urină proaspăt colectate. Hemoliza ușoară nu influențează asupra activității enzimei.
2. Nu se poate de folosit plasmă citrată sau oxalată deoarece sărurile de citrat sau oxalat înhibă activitatea enzimei.
3. Intensitatea culorii soluției de iod-amidon depinde de temperatură. De acea este necesar de a urmări ca temperatura să fie constantă în timpul reacției de culoare în probele de analizat și martor.
4. Valorile normale ale activității enzimei în serul sanguin și urină este de dorit de a controla pe donatori în fiecare laborator.

3.8 Determinarea acizilor sialici în serul sanguin prin metoda Hess

Principiu. La hidroliza glicoproteinelor serului sanguin acizii sialici se eliberează și formează compuși de culoare la încălzire cu reactivul acetico-sulfuric.

Reactivi :

1. Sol. de acid tricloracetic 10%.
2. Reactiv acetico-sulfuric: 95 cm^3 acid acetic glacial și 5 cm^3 acid sulfuric concentrat;
3. Soluție standard stoc. Soluție apoasă de acid N-acetil-neuraminic 2 mmol/l: 0,06186 g acid N-acetilneuraminic cristalin se dizolvă într-un balon cotat de 100 cm^3 și se aduce cu apă distilată la semn; 1 cm^3 sol. standard stoc conține 2 mmol de acid N-acetilneuraminic.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 540 ± 10;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002 g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- baie cu apă.

Tehnica de lucru. La 1 cm^3 ser sanguin în eprubeta de centrifugare se adaugă 1,0 cm^3 sol. de acid tricloracetic 10%. Eprubeta se introduce în baia de apă care fierbe pe 5 minute. Proba se răcește timp de 5 minute în apă rece cu gheață. Se agită eprubeta pentru desprinderea sedimentului de pe pereți și se centrifughează 5 minute la 500 g. Apoi se măsoară 0,4 cm^3 de supernatant într-o eprubetă cu dop rodat, se adaugă 5 cm^3 reactiv aceto-sulfuric și timp de 30 minute se fierbe în baie. Pe urmă proba se răcește până la temperatura camerei și se măsoară absorbanta la fotocolorimetru la 540 nm (filtru verde), în cuva de 1 cm față de martor. Martor - reactivul aceto-sulfuric.

Paralel cu proba de cercetat se montează probele cu material de control (una cu conținut normal și alta - patologic); ele se prelucrează la fel ca și proba de cercetat.

Calcularea rezultatelor se efectuează după curba etalon.

Construirea curbei etalon. Din soluția stoc standard de acid-N-acetilneuraminic se prepară soluții de lucru (tab.3.10.).

La soluțiile pregătite se adaugă 5 cm^3 reactiv aceto-sulfuric și se prelucreaza ca și probele de analizat.

Valori de referință. Concentrația acizilor sialici în ser exprimate în mmol/l a acidului N-acetilneuraminic este de 0,20 - 0,24 mmol/l.

Tabel 3.10.

Nr d/r	Soluția standard stoc de acid N-acetilneuraminic (cm^3)	Apă dist. (cm^3)	Concentrația acidului N-acetilneuraminic (μmol/l)
1.	0,10	0,30	0,0808
2.	0,15	0,25	0,1212
3.	0,20	0,20	0,1617
4.	0,25	0,15	0,2021
5.	0,30	0,10	0,2425
6.	0,40	-	0,3233

3.9. Dozarea crioglobulinelor

Crioglobulinele sunt proteine ale fracțiunii globulinice din ser, caracterizate prin faptul că preciptă spontan la temperaturi sub 37 grade C; precipitarea se produce la rece, la temperaturi de 7 - 11 grade C și mai ales când serul se introduce în refrigerator la +4 grade C. De obicei, precipitatele de crioglobuline se redizolvă la tem-peratura camerei și mai ales la 37 grade C. Unele crioglobuline pot în mod ocazional să se gelifice sau să precipite chiar la temperatura camerei.

Proba crioglobulinică

Sângele se prelevă cu acul încălzit până la 37 grade C; sângele recoltat se transferă imediat în termostat la 37 grade C pentru separarea serului. Serul se pune la rece, la +4 grade C în frigider pe 3-24 ore. În unele cazuri este nevoie de a păstra serul la frigider un timp mai îndelungat - până la 7 zile. Apariția unui precipitat alb sau gelificarea parțială sau totală a serului, care dispare la temperatura camerei sau la 37 grade C după

1 - 3 ore vorbește despre prezența crioglobulunelor. Uneori masa gelatinoasă se formează la 30 grade C. De aceea se recomandă de a colecta sângele într-o eprubetă de centrifugare preliminar încălzită până la 37 grade C și de al păstra în termostat la aceeași temperatură (37 grade C) până la centrifugare.

Proba de diluție Plotner

Într-o eprubetă în care se conține 10 cm^3 H_2O distilată se picură 0,2 cm^3 ser sanguin după ce eprubeta se introduce în frigider pe 16 - 24 ore. În caz de prezență a crioglobulinelor (proba pozitivă) conținutul eprubetei devine tulbure.

Determinarea cantitativă a crioglobulinelor.

Principiu: Se bazează pe precipitarea crioglobulinelor la rece, transferarea lor pe hârtia de filtru, fixarea la 105 grade C, colorarea cu albastru de bromfenol și determinarea fotometrică a colorantului legat cu proteinele după eluția acestuia în mediu bazic.

Reactivi:

1. Sol. de albastru de bromfenol 0,5% pregătită pe soluție de acid tricloracetic 5%.
2. Sol. acid acetic 2%.
3. Soluție standard de albumină 1%.
4. Sol. NaOH 0,05 M.

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică și apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 590 ± 10;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 și 1000± 0,5 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,005 cm^3 ;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- Termostat;
- Hârtie de filtru.

Tehnică: Într-o eprubetă în care se conține 10 cm^3 H_2O distilată se picură 0,2 cm^3 ser sanguin, eprubeta se introduce în frigider la +4 grade C pe 16 - 24 ore. După aceasta conținutul eprubetei se filtrează prin hârtie de filtru, care se usucă mai întâi la temperatura camerei apoi 10 min la 105 ± 5 grade C. Filtrul de hârtie cu proteinele fixate se colorează timp de 10 min cu o soluție de albastru de bromfenol de 0,5% pregătită pe o soluție de acid tricloracetic 5 %. Surplusul de colorant se spală minuțios cu acid acetic de 2%. Filtrul de hârtie se usucă la temperatura camerei și apoi se introduce pe 30 min într-o eprubetă care conține 10 cm^3 soluție de NaOH 0,05 N pentru eluția colorantului legat cu proteinele. Se măsoară densitatea optică a eluentului la electrofotocolorimetru la 590 nm în cuva de 5 mm față de soluția de NaOH 0,05 N.

Cantitatea de crioglobuline se determină după curba de calibrare, construită conform datelor obținute pentru soluțiile proteice cu concentrația cunoscută.

3.10 Teste-screening pentru depistarea dereglărilor metabolice congenitale sau dobândite la copii. Prima etapă de cercetare (cercetarea urinii)

Se analizează urină colectată dimineața. Se colectează o porție de urină mai concentrată emisă dimineața și se măsoară volumul ei.

3.10.1. Identificarea proteinei

A. Proba cu acid sulfosalicilic

(Vezi "Depistarea proteinei în urină",

B. Proba cu albastru de bromfenol

Principiu. Schimbarea culorii indicatorului în prezența proteinei.

Reactivi:

1. Acid 5,5-dietilbarbituric sare de sodiu (medinal);

2. Acetat de sodiu ($NaOOCCH_3 \cdot 3H_2O$);

3. Acid clorhidric, 0,1 mol/l;

4. Sol.tampon barbital-acetat, pH 8,6: 8,16 g medinal si 6,48 g acetat de Na se dizolvă în aproximativ 100 cm3 H_2O distilată se adauga 60 cm^3 acid clorhidric și se aduce cu H_2O distilată până la 1 l;

5. Albastru de bromfenol, solubil în apă, indicator;

6. Sulfat de zinc ($ZnSO_4.7H_2O$);.

7. Sol.de indicator: 0,5 g albastru de bromfenol, 50,0 g de sulfat de zinc se dizolvă în 1 l H_2O distilată;

8. Acid acetic. La 1 cm^3 acid acetic concentrat se adaugă 9,0 cm^3 H_2O distilată;

9. Sol.de albumină. 1,0 g albumină la 100 cm^3 sol. fiziologica. Soluția de lucru de albumină se pregătește pentru diluție sol.de albumină cu H_2O distilată 2; 4; 8; 16 ori;

10.Hidroxid de sodiu 0,02 mol/l.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005$ cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnica de lucru: 0,02 cm^3 urină se picură pe hârtia de filtru, îmbibată în prealabil cu soluție tampon barbital-acetat și apoi uscată. Se usucă din nou și se colorează, introducând hârtia în indicator, apoi se spală cu acid acetic timp de 5-7 minute.

Aprecierea rezultatelor: Rezultatul se apreciază vizual cu ajutorul sol.de lucru de albumină, prelucrate în același mod ca și proba de cercetat. Metoda permite de a identifica în urină proteina în concentrație 2 mg în probă.

3.10.2. Proba pentru depistarea hiperaminoaciduriei

Principiu. Aminoacizii la încălzire cu ninhidrina formează compuși de culoare albastră-violetă.

Reactivi:

1. Ninhidrină.

2. Acetonă.

3. Acid acetic glacial.

4. Sol.de ninhidrină: la 0,5 g ninhidrină se adaugă 95 cm^3 acetonă, 1 cm^3 acid acetic glacial și 4 cm^3 H_2O distilată.

5. Glicină.

6. Sol.de glicină: 150,0 mg glicină se dizolvă in 100 cm^3 $H_2 0$ distilată. 1 cm^3 soluție conține 1,5 mg glicină, ce corespunde 0,28 mg aminoazot. Din soluția dată de glicină se pregătesc diluțiile: 1; 3; 6; 9; 18;. 24; 36; 54 cm^3 sol.glicină se aduce până la 100 cm^3 cu H_2O dist. Diluțiile pregătite corespund: 0,28; 0,84; 1,68; 2,52; 5,04; 6,72; 10,08; 16,12 mg aminoazot în 100 cm^3. Soluțiile sunt stabile la păstrarea lor în frigider, timp de 1 lună.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 630 ± 10 sau 690 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005$ cm^3;

Tehnica de lucru: 0,02 cm^3 urină se picură pe hârtie de filtru şi după uscare se colorează cu soluţie ninhidrină apoi se usucă la aer până la dispariţia completă a mirosului de acid acetic şi se introduce în dulapul de uscare la t - 60 °C pe 15 minute. Soluţia de glicină pregătită se prelucrează la fel ca şi urina, luând câte 0,02 cm^3 de fiecare soluţie de glicină.

Aprecierea rezultatelor: Colorarea probei se compară cu culoarea soluţiilor de glicină. Rezultatele se înseamnă în "mg" aminoazot, eliminat cu urina în decurs de 24 ore. Eliminarea aminoazotului cu urina la copii în normă nu depăşeşte 1-2 mg/kg corp. În timpul nopţii se elimină 2/3 - 3/4 din cantitatea totală de 24 ore.

3.10.3 Identificarea cistinei şi homocistinei

Principiu. Azidul de sodiu şi iod formează compuşi complecşi de culoare brună, care se decolorează în prezenţa cistinei şi homocistinei.

Reactivi:

1. Azid de sodiu.
2. Iod-cristalic.
3. Sol.de I_2: 12,69 g de iod cristalic se cântăreşte în boxă, se dizolvă în soluţie saturată de KI (37 g KI în 26 cm^3 H_2O dist.), se transfera într-un balon cotat şi se aduce cu H_2O până la 1 l. Se poate de folosit fixanalul de I_2, 0,1 n.
4. Alcool etilic 96°
5. Sol.de azid de sodiu: 1,5 g azid de sodiu se dizolvă în 50 cm^3 soluţie iod şi se aduce volumul până la 100,0 cm^3 cu alcool etilic. Soluţiile se păstrează în vas de sticlă brună la frigider.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: 1 picătură de urină se picură pe hîrtiea de filtru şi după uscare se adaugă 1 picătură azid de Na. Timp de 5 minute se urmăreşte dispariţia culorii brune.

Aprecierea rezultatelor: După timpul (în minute) dispariţiei culorii se apreciază prezenţa aminoacizilor în probă. În normă culoarea dispare peste 2-3 minute. Pentru primirea rezultatelor calitative culoarea probei se compară cu scara colorată. Pentru primirea ei se pregătesc soluţii de cistină şi homocistină, care conţine 0,6 mg de fiecare aminoacid în 1 cm^3. Nivelul inferior al sensibilităţii probei - 0,3 mg/ cm^3.

Nota: Reacţii fals-pozitive pot provoca acetona, unele preparate medicamentoase.

3.10.4 Identificarea prolinei şi altor aminoacizi

Principiul. Izatina formează cu unii aminoacizi compuşi complecşi specifici.

Reactivi:

1. Izatină.
2. Acetona.
3. Sol.izatină în acetonă, 0,2 g/l. Soluţia se păstrează la frigider la t +4 °C.
4. Acid clorhidric - 1 mol/l.

Tehnica de lucru: Hârtia de filtru se îmbibă cu soluţie de izatină, în acetonă şi apoi se usucă. După uscare pe hârtia de filtru se picură 1 picătură de urină. Se usucă la t 100 °C timp de 10 min, apoi se umectează cu HCl şi după aceea se clăteşte cu apă curgătoare din robinet.

Aprecierea rezultatelor: O culoare albastră-surie se obţine în caz când conţinutul fenilalaninei este ridicat, brună - triptofanul, purpurie - amestecul a mai multor aminoacizi, iar apariţia culorii albastre în formă de cerc indică la prezenta în urină a prolinei libere (nu mai puţin de 0,1 mg/cm^3). Culoarea probei se poate de comparat cu scara colorată. Pentru pregatirea ei se pregătesc sol.de prolina, fenilalanina şi triptofan, ce conţin câte 0,5 mg de aminoacizi în 1 cm^3. Din aceste soluţii se pregătesc diluţii ce conţin de la 0,1 până la 0,5 mg de aminoacizi respectivi în 1 cm^3.

3.10.5 Identificarea cetoacizilor

Principiul. Clorura de Fe(III) în prezența acidului clorhidric formează cu cetoacizii compuşi specifici colorați.

Reactivi:

1. Clorura de fier ($FeCl_3.6H_2O$), 100 g/l soluție.
2. Soluție acid clorhidric 10 %.
3. Clorura de magneziu ($MgCl_2.6H_2O$).
4. Amoniac (NH_4OH) concentrat.
5. Sol $MgCl_2.6H_2O$: la 11,0 g clorură de magneziu se adaugă 20 cm^3 amoniac concentrat, apoi volumul se aduce cu H2O dist. până la 1 l.

Tehnica de lucru:

Varianta I. La 0,5 cm^3 urină se adaugă 0,25 cm^3 sol. de clorură de fier (III). Reacția este pozitivă in cazul apariției sedimentului de culoare verde închisă.

Varianta II. La 4 cm^3 urină se adaugă 1 cm^3 sol.clorură de magneziu (pentru înlăturarea fosfaților care amestecă reactiei) se agită bine şi peste 5 minute se filtrează. La sol. filtrată se adaugă 2 picături sol.HCl şi 2 picături sol.clorură de fier (III). Apariția culorii se urmăreşte timp de 5 minute.

Aprecierea rezultatelor. Apariția culorii indică nu numai prezența cetoacizilor, dar şi a altor compuşi. Prezența sau lipsa cetoacizilor se apreciază după culoarea apărută (vezi tabelul 3.11).

Tabel 3.11

Reacțiile de culoare ale diferitor compuşi cu clorura de fier(III)

Culoarea	Compuşii
Galbenă	Acizii piruvic, a-cetoizovalerianic
Galbenă ce dispare imediat	Acizii para-hidroxifenipiruvic, imidazolpiruvic
Verde sau albastră-verzuie	Acizii fenilpiruvic, imidazolpiruvic
Albastră-verzuie	Bilirubina
Verde-inchisă care trece mai târziu în cafenie (brună)	Acidul xanturenic
Roşu-brun	Acizii acetilacetic şi paraaminosalicilic
Rosu-brun cu trecerea în verde-albastru	Acidul vanilinic
Roz-liliaciu	Acidul orto-hidroxifenilacetic
Purpurie	Derivatii fenotiazinei, salicilații
Purpurie care trece apoi în purpuriu-brună	α-Cetobutiratul
Brună intunecată care Apare brusc	Acidul 3-hidroxiantranilic
Sură cu nuanța verzuie	Acizii α-cetoizocapronic, α-cetoizovalerianic, α-cetometil-malonic

3.10.6 Identificarea cetoacizilor după reacția cu 2,4-dinitrofenilhidrazină

Principiu. Cetoacizii formează cu (2,4-dinitrofenil)-hidrazina hidrazoni colorați.

Reactivi:

1. Acidul clorhidric, 2mol/l.
2. (2,4-dinitrofenil)-hidrazina (2,4-DNFH).
3. Sol.2,4-DNFH: 2,0 g 2,4-DNFH la 1 l sol. de 2 mol/l HCl.
4. Eter dietilic.
5. Carbonat de sodiu (Na_2CO_3), 100 g/l sol.

Utilaj:
- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: 0,25 cm^3 urină şi 1,0 cm^3 sol.2,4-DNFH se amestecă. Peste 10 minute se adaugă 1,25 cm^3 eter dietilic şi se agită bine. Stratul de eter dietilic se extrage atent şi se transferă în altă eprubetă la care se mai adaugă un volum egal de sol. de 100 g/l Na_2CO_3. Conţinutul eprubetei se agită.

Aprecierea rezultatelor. Intensitatea compusului colorat ce se formează se apreciază vizual după scara de la 0 până la 4. Culoarea galbenă corespunde gradaţiei 2, oranj - 3 , oranj-intunecat (aproape cafenie) - 4. În norma conţinutul eprubetei nu se colorează.

3.10.7 Identificarea acidului homogentizinic

Principiu. În mediul bazic acidul homogentizinic uşor se oxidează cu formarea compusului de culoare albastră-violetă.

Reactivi:

1.Sol. hidroxid de sodiu, 100 g/l.

Utilaj:
- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: La 0,5 cm^3 urină se adaugă câteva picături sol.de hidroxid de sodiu, 100 g/l. Rezultatele se apreciază după 1-2 minute.

Aprecierea rezultatelor. În cazul reacţiei pozitive urina se colorează în albastru-violet. În normă culoarea nu se dezvoltă.

3.10.8 Identificarea indicanului (proba Obermeyer)

Principiu. Transformarea indicanului în indoxil după hidroliza legăturii eterice a acidului mineral şi apoi oxidarea indoxilului cu clorura de fier (III) cu formarea compusului colorat.

Reactivi:

1. Acetat de plumb [$(CH_3COO)_2Pb.2H_2O$],100 g/l sol.
2. Acid clorhidric concentrat.
3. Clorura de fier (III) ($FeCl_3.6H_2O$).
4. Reactivul Obermeyer: 0,4 g ($FeCl_3.6H_2O$) se dizolvă în 100 cm^3 acid clorhidric concentrat.
5. Cloroform.
6. Tiosulfat de sodiu (Na2S2O3.5H2O),200 g/l sol.

Utilaj:
- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: Într-o eprubetă ce conţine 4 cm^3 urină se adaugă 0,4 cm^3 sol. acetat de plumb pentru sedimentarea pigmenţilor biliari, sărurilor şi altor substanţe ce amestecă reacţiei. Apoi conţinutul eprubetei se filtrează şi 1-2 cm^3 de filtrat se amestecă cu un volum egal de reactiv Obermeyer, se mai adaugă 0,5 - 1 cm^3 cloroform şi atent se agită. Dacă stratul de cloroform (inferior) se colorează în albastru sau roşu, atunci acesta se transfera în altă eprubetă şi se adaugă câteva picături de tiosulfat de sodiu.

Aprecierea rezultatelor. În cazul reacţiei pozitive culoarea stratului de cloroform nu dispare la adăugarea tiosulfatului de sodiu. În norma reacţia este negativă.

3.10.9 Identificarea glucozei (Vezi determinarea glucozei în urină)

3.10.10 Identificarea fructozei (proba Selivanov)

Principiu. Fructoza cu rezorcina formează la incălzire un compus de culoare roşie.

Reactivi:

1. Acid clorhidric, 1 mol/l.
2. Sol. rezorcină: 5,0 g la 1 l sol.de acid clorhidric.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru. La 1 cm^3 sol.rezorcina se adaugă 2 cm^3 urină, apoi se încălzeşte în baia clocotită până la fierbere.

Aprecierea rezultatelor: În prezenţa fructozei se dezvoltă rapid o culoarea roşie intensă. În norma culoarea roşie este absentă.

3.10.11 Identificarea lactozei şi maltozei (proba Velka)

Principiu. Lactoza şi maltoza formează cu amoniacul în mediu bazic la încălzire un compus colorat.

Reactivi:

1. NH4OH - concentrat.
2. Hidroxid de potasiu, 200 g/l sol.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: La 5 cm^3 urină se adaugă 2,5 cm^3 NH4OH-concentrat, 0,2 cm^3 sol.KOH şi se încălzeşte la baia de apă 30 minute la t - 60 °C.

Aprecierea rezultatelor. Pentru lactoză este caracteristic apariţia culorii cafenii, iar pentru maltoză - culoarea roşie. În normă culoarea este absentă.

3.10.12 Identificarea pentozelor (proba Bial)

Principiu. Pentozele cu orcina şi clorura de fier în mediu acid formează la încălzire un compus colorat.

Reactivi:

1. 5 - metilrezorcină.
2. Acid clorhidric concentrat.
3. Sol. clorură de fier ($FeCl_3.6H_2O$), 100 g/l.
4. Reactivul Bial: 1,0 g orcină se dizolvă în 500 cm^3 HCl şi se adaugă 1 cm^3 sol.clorura de fier.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;

Tehnica de lucru: 5 cm^3 reactiv Bial se amestecă cu 1 cm^3 urină şi se încălzeşte până la fierbere.

Aprecierea rezultatelor. În cazul reacţiei pozitive apare o culoare galben-verzuie aprinsă. În normă culoarea lipseşte.

3.10.13 Identificarea glicozoaminoglicanilor

Principiu. Bromatul de cetiltrimetilamoniu cu glicozoaminoglicanii formează în mediu acid un sediment de culoare albă.

Reactivi:

1. Acid citric.
2. Hidroxid de sodiu.
3. Soluţie tampon citrat, 1 mol/l, pH 5,7: 210,0 g acid citric se dizolvă într-o cantitate nu prea mare de apă, se adaugă 120 g NaOH. Se răceşte şi se adaugă H_2O dist.până la 1 l.
4. Soluţie bromat cetiltrimetilamoniu : 25,0 g la 1 l de sol.tampon citrat.

Utilaj:
- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,05 cm^3;

Tehnica de lucru: La 5 cm^3 urină proaspăt emisă se adaugă 1 cm^3 soluţie bromat cetiltrimetilamoniu şi timp de 30 minute se urmăreşte formarea sedimentului.

Aprecierea rezultatelor: Reacţia se consideră pozitivă în caz de formare a sedimentului. În normă sedimentul nu se formează.

Proba nu este specifică, în 40% cazuri reacţia este fals-pozitivă.

3.10.14 Identificarea calciului (proba Silcovici)

Principiul. Ionii de calciu cu acidul oxalic formează o sare insolubilă - oxalatul de calciu.

Reactivi:

1. Acid oxalic.
2. Oxalatacid de amoniu.
3. Acid acetic glacial.
4. Reactivul Silcovici: 2,5 g acid oxalic, 2,5 g oxalat acid de amoniu şi 5 cm^3 de acid acetic glacial, se dizolvă în 50 cm3 apă distilată apoi se aduce până la volumul 150 cm^3.

Utilaj:
- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,05 cm^3;

Tehnica de lucru: La 0,5 cm^3 urină se adaugă 0,5 cm^3 reactiv Silcovici, se agită. Peste 1-2 minute se apreciază gradul de tulbiditate.

Aprecierea rezultatelor: Gradul de turbiditate se compară cu urina filtrată a aceluiaşi pacient şi se determină vizual:

0 - lipsa turbidităţii.
1 - tulbiditate slabă.
2 - tulbiditate moderată.
3 - turbiditate însemnată.
4 - tulbiditate pronunţată.

Turbiditatea de gradul 3-4 indică creşterea conţinutului de calciu în urină.

CAPITOLUL 4

EXPLORAREA SISTEMULUI DE HEMOSTAZĂ

4.1 Date contemporane privind mecanismele hemostazei și testele de evaluare și monitotoring a sindroamelor hemoragice și terapiei antigoagulante

Hemostaza este unul din mecanismele homeostatice, care asigură stoparea sângerării și care totodată previne tromboza vaselor sanguine. La realizarea hemostazei participă 3 componente principale, care se află în strânsă interrelație: peretele vascular, elementele figurate ale sângelui (în special trombocitele-plachetele sanguine) și factorii plasmatici.

În urma leziunii vaselor sanguine au loc:

- vazoconstricția, provocată de serotonină și adrenalină;
- denudarea (dezgolirea) și expunerea colagenului - principalul stimulator al agregării și adeziunii trombocitelor;
- eliberarea tromboplastinei tisulare cu formarea trombinei - al doilea agent al agregării plachetelor sanguine.

Adeziunea trombocitelor la straturile subendoteliale necesită prezența cofactorului plasmatic - factorul Willebrand, care este adsorbit pe suprafața subendoteliului (colagen, membrana bazală). Pe parcursul agregării și adeziunii trombocitelor se produce eliberarea rapidă în mediu a unei cantități importante de serotonină, ADP, adrenalină, factor III fosfolipidic plachetar, factor IY antiheparinic, etc., iar acest proces a fost denumit "reacția de punere în libertate a factorilor, constituenților plachetari".

În urma acestor modificări se formează un agregat din trombocite, un dop hemostatic plachetar, are loc ***hemostaza "primară"***, care asigură stoparea hemoragiei în capilarele sanguine. Explorarea hemostazei primare în ansamblu se face prin determinarea timpului de sângerare (TS) care are valori de 3-4 min.

Un rol primordial în asigurarea hemostazei definitive în vasele de calibru mare și mijlociu îl joacă factorii plasmatici ai coagulării. Expunerea țesutului subendotelial determină, în paralel cu modificările funcționale ale plachetelor și ale peretelui vascular, activarea factorilor plasmatici ai coagulării. Totalitatea proceselor care se desfășoară în decurs de 5-10 minute și care conduc la formarea fibrinei în rezultatul activării factorilor plasmatici reprezintă ***hemostaza secundară***. Există două căi de activare a coagulării: calea intrinsecă și exrinsecă.

Contactul sângelui cu colagenul activează factorul XII ("factorul de contact") cu formarea tromboplastinei pe calea intrinsecă iar la pătrunderea în sânge din țesuturi a factorilor tisulari are loc formarea tromboplastinei pe cale extrinsecă.

Procesul plasmatic de coagulare a sângelui reprezintă o cascadă de reacții fermentative în care fiecare factor precedent inactiv (proenzimă) se transformă în factor activ, care la rândul său îl activează pe următorul factor inactiv. Factorii II, VII, IX, X, XI, XII sunt enzime; factorii V și VIII nu au activitate enzimatică, factorul I este un substrat. Produsul final al acestui proces este fibrina - polimer, care sub acțiunea factorului XIII formează rețeaua de fibrină stabilizată și în care sunt reținute trombocitele și alte elemente figurate astfel formând trombusul hemostatic. Mai departe are loc consolidarea chiagului și retracția lui sub acțiunea trombosteninei eliberate din trombocite - plachetele sanguine.

Următoarea etapă a hemostazei fiziologice este ***fibrinoliza,*** proces care asigură liza trombusului de fibrină în vederea repermeabilizării vasului obstruat. Fibrinoliza se petrece analogic coagulării - enzima proteolitică (fibrinolitică) principală - plasmina se activează în rezultatul reacțiilor fermentative din profermentul inactiv - plasminogenul.

Formarea complexului de activare a fibrinolizei are loc la sfarșitul procesului de coagulare, după ce trombusul fibrino-plachetar format și-a atins scopul (oprirea hemoragiei). Fibrina însăși constituie suprafața de activare și în același timp cofactorul care asigură transformarea plasminogenului inactiv în plasmină activă - enzima care produce liza fibrinei. Activatorii plasminogenului sunt: activatorii tisulari ai plasminogenului (t-PA), urokinaza și calicreina.

Produșii rezultați din fibrinoliză denumiți produșii de degradare ai fibrinogenului și fibrinei sunt cunoscuți în practica clinică sub termenul prescurtat de PDF, iar complexele între ei și fibrinogen - complexele monomerilor solubili de fibrină.

În sistema de hemostază există inhibitori ai factorilor și reacțiilor proceselor de coagulare și fibrinoliză. Inhibitorii factorilor și reacțiilor proceselor de coagulare constituie **sistemul anticoagulant**. Unul din inhibitorii fiziologici principali ai sistemului de coagulare este complexul antitrombina III cu cofactorul său heparina (75 % din activitatea anticoagulantă fiziologică).

Formarea complexelor anticoagulante constituie un mecanism important de prevenire a unei hemostaze excesive. Prin fixarea trombinei pe trombomodulina endotelială (TM) se formează un complex macromolecular de activare a proteinei C. Proteina C activă se va fixa, la rândul ei, pe fosfolipida plachetară prin punți de Ca^{2+}, și impreună cu un cofactor (proteina S anticoagulantă) determină inactivarea cofactorilor f.VIIIa și f.Va. Astfel, proteina C activă intrerupe formarea fibrinei, coagularea fiind limitată la zona lezionată.

Inhibitorii principali ai fibrinolizei :

- a_1 antiplasmina (90% din activitatea antiplasminică a sângelui);
- a_2 macroglobulina;
- C-I-inactivator;

În diverse dereglări ale sistemului de hemostază există atât riscul hemoragiei cât și cel al trombozei intravasculare.

Hemoragiile pot avea loc atât în dereglările congenitale cât și cele dobîndite ale peretelui vascular, tulburările cantitative și moleculare ale factorilor plasmatici ai coagulării, la apariția inhibitorilor patologici, la supradozarea anticoagulantelor exogene, a antiagregantelor și fibrinoliticelor. Trombozele sub formă de microtrombi sau coagularea intravasculară diseminată (CID) pot apărea în urma activării excesive a diferitor etape de coagulare cu eliberarea în sânge a unei cantități mari de amine biogene, la traumatizarea membranei bazale subendoteliale, apariția în sânge a diferitor toxine ori în cazul deficitului de anticoagulanți (deficitul antitrombinei III).

Multe din tulburările congenitale (a) sau dobândite (b), care influențează asupra sistemului de hemostază pot fi privite ca factori de risc al trombofiliei, adică sunt legate cu riscul major al dezvoltării tromboemboliei venoase:

- deficitul antitrombinei III, proteinelor C și S (a,b);
- mutația f.5 (a);
- anticoagulantul lupic (b);
- nivelele majorate ale fibrinogenului și f.VIII (b);
- hipertrombinemia (b);
- hiperhomocisteinemia (a,b).

În prezent s-au elaborat un șir de metode de examinare a sistemului de coagulare cu scopul depistării tulburărilor acestuia la diferite etape.

Însă explorarea disfășurată a sistemului de coagulare și anticoagulant la diferite etape este dificilă și nerațională. De aceea examinarea bolnavului trebuie subordonată unui anumit scop concret. Testele pentru examinarea hemostazei la bolnav sunt determinate de medicul-clinician. Descriem următoarele categorii de teste importante pentru diagnosticul tulburărilor sistemului de hemostază.

Testele de evidențiere a coagulopatiilor latente (la intervenții chirurgicale, la utilizarea terapiei antitrombotice)

1) numărul de trombocite în sânge;
2) timpul de sângerare;
3) timpul de recalcificare activat (timpul caolinic) ori tromboelastograma;
4) timpul de tromboplastină parțial activat;
5) timpul de protrombină (timp Quick) (indicele protrombinic), raportul internațional normalizat (INR);
6) fibrinogenul;
7) activitatea fibrinolitică;
8) factorul XIII (absența cicatrizării în anamneză și prezența cicatricei cheloide);
9) complexele monomerilor solubili de fibrină (la solicitarea clinicienilor);
10) antitrombina III (e de dorit de examinat înaintea terapiei cu heparină la prezența în anamneză a trombozelor și la folosirea contraceptivelor orale).

Testele de diferenţiere a diatezelor hemoragice:

1) numărul de trombocite în sânge;
2) timpul de sângerare;
3) timpul de recalcificare activat (timpul caolinic) ori tromboelastograma;
4) timpul de tromboplastină parţial activat;
5) timpul protrombinic;
6) fibrinogenul;
7) activitatea fibrinolitică;
8) factorul XIII.

În dependenţă de devierile testelor 1-7 de la normă se efectuează investigaţii de diferenţiere. Devierile numai în testele 1-3 sunt caracteristice pentru faza trombocitară a hemostazei. Dacă numărul de plachete este normal iar timpul de sângerare şi timpul de recalcificare activat (timpul caolinic) - prelungite, se determină proprietăţile funcţionale ale plachetelor (funcţiile dinamice) pentru stabilirea tipului de trombocitopatie:

9) adeziunea plachetelor la sticlă (retenţia plachetelor);
10) agregabilitatea plachetelor la diverşi agonişti: ADP, colagen, ristomicină.

Timpul prelungit în testele 3-5 şi cantitatea normală de fibrinogen sunt caracteristice pentru dereglările factorilor plasmatici ale hemostazei ceea ce necesită efectuarea :

11) probelor de corecţie a inhibiţiei după timpul de tromboplastină parţial activat,
12) probelor de corecţie a inhibiţiei după timpul protrombinic.

În cazul deficienţei inhibitorilor (anticoagulanţilor) se vor efectua :

13) probele de corecţie şi diferenţiere după timpul de tromboplastină parţial activat;
14) probele de corecţie şi diferenţiere după timpul protrombinic cu folosirea plasmei adsorbite şi serului pentru depistarea dificitului unor anumiţi factori de coagulare;
15) determinarea cantitativă a unor factori de coagulare.

În cazul depistării inhibitorilor (anticoagulanţilor) se determină:

16) timpul de trombină, iar în caz de prelungire a lui:
17) timpul de trombină cu sulfat de protamină.

Complexul de metode de diagnostic şi monitorizarea tratamentului sindromului de coagulare intravasculară diseminată (CID).

A. Testele globale de coagulare.

- TTPA;
- timpul de protrombină (tromboplastină);
- timpul de trombină;
- fibrinogenul în plasma sanguină.
- marcherii activării intravasculare a coagulării sanguine şi fibrinolizei;
- marcherii celulari;
- fragmentarea eritrocitelor (în frotiu sau în gradientul densităţii ficol/verografină);
- numărătoarea trombocitelor în sânge;
- agregarea spontană a trombocitelor.

B. Dozarea anticoagulanţilor fiziologici:

- antitrombina III;
- proteina C;

Testele de evaluare a eficacităţii terapiei antitrombolitice.

A. Controlul medicaţiei cu anticoagulante indirecte (antivitamine K):

- Timpul protrombinic (tromboplastinic) în sânge sau plasma sanguină, exprimat în indicele internaţional de sensibilitate al tromboplastinei - raportul internaţional normalizat (INR);
- Timpul de tromboplastină parţial activat (TTPA) în plasma sanguină;
- Screeningul tulburărilor în sistemul proteinelor C+S (Testul global, parus-test).

Aceste teste reflectă acţiunea antivitaminelor K asupra complexului protrombinic, dar nu şi starea

hemostazei globale. Deaceea se recomandă suplimentar, odată în 7-10 zile, de efectuat dozarea fibrinogenului, activității fibrinolitice, complexelor solubile a monomerilor de fibrină, produselor de degradare a fibrinei cu scopul de a nu admite activarea accidentală a proceselor de coagulare a sângelui și instalarea sindromului CID.

B. Controlul terapiei cu heparine nefracționate:

- timpul de coagulare a sângelui integral (la patul bolnavului);
- timpul de tromboplastină parțial activat (TTPA) în plasma sanguină cu reactivul atestat după sensibilitate cu heparină;
- TTPA în plasma sanguină până și după absorbția heparinei cu sorbent (Hepasorb-2);
- timpul de trombină al plasmei sanguine;
- timpul de trombină al plasmei sanguine până și după absorbția heparinei cu sorbent (Hepasorb-1);
- antitrombina-III;
- activitatea progresivă a antitrombinei III în plasma sanguină după absorbția heparinei cu sorbent (hepasorb-1);
- activitatea heparin-cofactorială în variantele coagulolitică și amidolitică;
- timpul trombin-heparinic în plasma săracă în trombocite;
- dinamica conținutului de complexe fibrin-monomerice în plasmă la etapele de tratament;
- numărul de trombocite în sânge după 5-6 și 14 zile de la inițierea terapiei.

C. Controlul terapiei cu heparine cu masa moleculară joasă:

- inhibitorul activității factorului Xa în plasma sanguină;
- dinamica conținutului de complexe fibrin-monomerice în plasmă la etapele de tratament;
- numărul de trombocite în sânge după 5-6 și 14 zile de la inițierea terapiei.

D. Controlul terapiei cu hirudină și preparatele ei:

- TTPA;
- timpul de trombină;
- D-dimerii.

E. Controlul terapiei cu fibrinolitice:

- plasminogenul;
- fibrinogenul;
- fragmentele D și D-dimerele;
- activatorul tisular al plasminogenului (tPA);
- alfa 2-antiplasmina;
- inhibitorul activatorului plasminogenului I (PAI I);

F. Controlul terapiei cu antiagregantele trombocitare:

- agregarea trombocitelor cu folosirea agoniștilor ADP și adrenalinei;
- numărul de agregate trombocitare în sânge;
- agregarea spontană a trombocitelor.

G. Controlul terapiei cu trombolitice :

1) fibrinogenul;
2) timpul de trombină;
3) activitatea fibrinolitică;
4) produsele de degradare a fibrinei.

4.2 Colectarea și prelucrarea sângelui

Sângele se colectează pe nemâncate (a jeun) din vena cubitală cu un ac cu lumen larg de unică folosință, fără seringă. Se exclude colectarea sângelui prin cateter, deoarece acesta periodic se spală cu heparină și în curburile lui se poate produce traumatizarea elementelor figurate ale sîngelui (activarea coagulării). În timpul colectării nu se recomandă aplicarea garoului și masajul antibrațului pentru evitarea activării coagulării și fibrinolizei.

Sângele se colectează în eprubete de centrifugat gradate din plastic sau siliconate (pentru a diminua contactul sângelui cu suprafața heterogenă) și care conțin un anticoagulant care leagă ionii de calciu.

În calitate de anticoagulant se utilizează :

1) Sol. de citrat trisodic 36 g/l (citratul trisodic asigură o stabilitate mai mare a factorilor de coagulare a sângelui în plasmă decât oxalatul de sodiu, care accelerează inactivarea factorilor V,VIII şi agregarea plachetelor);

2) 13,4 g/l sol. oxalat de sodiu.

Pentru a obţine indici corecţi a hemostazei e necesară respectarea strictă a raportului dintre volumul sângelui şi anticoagulantului. În cazul când hematocritul (Ht) este normal acest raport va fi de 9:1, iar la devierile mari de la normă a hematocritului acest raport se schimbă: cu cât mai mare este Ht, cu atât mai puţin anticoagulant e necesar de folosit (tab.4.1).

Tabel 4.1.

Indicii hematocritului	%	Sol.anticoagulant (cm^3)	Volumul de sânge cu anticoagulant (cm^3)
0,20	20	1,4	10
0,20-0,26	22-26	1,3	10
0,28-0,32	28-32	1,1	10
0,34-0,38	34-38	1,1	10
0,40-0,44	40-44	1,0	10
0,46-0,50	46-50	0,9	10
0,52-0,56	52-56	0,8	10
0,58-0,60	58-60	0,7	10
mai mare 0,65	>65	0,5	10

Dacă nu este cunoscut Ht, atunci cantitatea de Hb în g/l se înmulţeşte cu 0,003 şi obţinem valoarea aproximativă a Ht. În eprubete se toarnă soluţia de anticoagulant şi se înseamnă cota pînă la care va fi colectat sângele. Eprubetele se păstrează în frigider la 4° C şi vor fi aduse în secţia de laborator înaintea efectuării examinării. Eprubetele vor fi bine închise cu dopuri din plastic sau tampoane înfăşurate în peliculă polimerică.

La colectarea sângelui primele 5-6 picături se înlătură, după ce eprubeta se umple cu sânge până la cotă. Eprubetele se închid ermetic cu capac sau dop şi prin mişcări line se amestecă sângele cu anticoagulantul, întorcând eprubeta de câteva ori. După aceasta eprubetele cu sânge se transferă în baia cu gheaţă (vas cu gheaţă cu apă) pentru a împedică activarea coagulării şi fibrinolizei, după ce imediat se trimit în laborator.

Pentru examinarea proprietăţilor funcţionale ale trombocitelor sângele se colectează în eprubete separate şi se trimite în laborator fără gheaţă. E necesar ca timpul între colectarea şi prelucrarea sângelui să nu depăşiască 30-40 minute.

Pentru examinarea coagulogramei fără determinarea proprietăţilor funcţionale ale trombocitelor e necesar de 6-8 cm^3 sânge. Pentru examinarea particularităţilor plachetelor sanguine e necesar de înca 8 cm^3 sânge (cu anticoagulant). Explorările se efectuează în plasma bogată şi săracă în trombocite, pentru ce plasma se centrifughează la două regimuri diferite. De aceia mai puţin de jumătate din sângele colectat se toarnă în altă eprubetă de centrifugare siliconată (pentru obţinerea plasmei bogate în plachete), iar pentru efectuarea testului de autocoagulare se toarnă încă 0,3-0,4 cm^3 sînge în altă eprubetă, care se păstrează la +4 °C pînă la examinare.

Plasma bogată în plachete sanguine se obţine prin centrifugarea sângelui la 1000 tur/min timp de 5 minute. Se pot folosi atât eprubete de plastic, cât şi cele de sticlă siliconată. De preferinţă pentru centrifugare sunt centrifugile cu rotorul orizontal de tip "ОПН-3", deoarece ea rapid obţine turaţiile, rapid se opreşte, iar elementele figurate ale sângelui se sedimentează strict orizontal.

Plasma săracă în plachete sanguine se obţine prin centrifugarea sângelui la 3000-4000 tur/min timp de 15 minute. În acest caz se folosesc eprubete de plastic în centrifuga de tip "ОПН-8" cu rotor unghiular.

După centrifugare plasma se transferă în eprubete de plastic sau siliconate de 10-13 mm x 120 mm, respectiv marcate (tipul plasmei, codul pacientului). Eprubetele cu plasmă se astupă şi se păstrează în

baia cu gheaţă pînă la finisarea explorărilor. Toate testele coagulologice se execută nu mai tirziu de 4 ore după obţinerea plasmei. Pentru îndeplinirea unor teste e necesar ca plasma săracă în plachete sanguine să fie congelată la -20 °C şi păstrată la această temperatură timp de două săptămâni.

Eprubetele cu plasmă, destinată pentru examinarea agregabilităţii plachetelor sanguine, nu se păstrează în baia cu gheaţă.

Plasma cu caracter hemolitic sau cu amestec de eritrocite nu se examinează.

4.2.1 *Prelucrarea veselei de laborator*

Pentru explorările coagulologice se utilizeaza:

Veselă de sticlă pentru efectuarea probei, veselă de sticlă siliconată şi plastic pentru colectarea şi păstrarea sângelui şi plasmei.

În timpul lucrului vesela siliconată şi nesiliconată se plasează în tăvi separate apoi se spală, se usucă şi se păstrează aparte.

Vesela cu sânge şi plasmă folosită, la început se dezinfectează în soluţiile dezinfectante conform ordinilor în vigoare, apoi se spală cu apă fierbinte, cu muştar sau detergent, se clătesc la get de apă abundent (nu mai putin 15 de min) şi apă distilată (nu mai puţin de 3-4 ori). Pentru a evita deteriorarea suprafeţei eprubetelor peria se înfăşoară cu ţesătură de capron.

Pipetele se prelucrează în aceleaşi soluţii cu ajutorul baloanelor de cauciuc.

Uscarea veselei se petrece în pupinel la 180 - 200 °C timp de 60 minute.

Vesela din masă plastică se usucă la temperatura camerei sau în pupinel la temperatură nu mai mare de 60 °C.

Siliconarea. Pentru a diminua contactul sângelui cu sticla (împedicarea activării coagulării) se aplica siliconarea veselei de sticlă, adică acoperirea sticlei cu un strat de silan. Cel mai des se utilizează diclordimetil silanul. Eprubetele de sticlă se umple cu soluţie 5% silan în toluol; pipetele se umple cu ajutorul baloanelor de cauciuc. Soluţia de silan din eprubete sau pipete se toarnă într-un vas şi se păstrează pentru utilizarea repetată a reactivului. Procedura se execută sub nişa de ventilare. După siliconare vesela se usucă în pupinel la 180 – 200 °C timp de 1-2 ore. După folosirea de 4-5 ori a veselei siliconarea se repetă.

4.2.2 *Pregătirea reactivilor pentru metodele de examinare a hemostazei*

Toţi reactivii trebuie să fie de calitate analitică sau chimică şi apa folosită să fie distilată, pregătită după GOST 6709-72 sau apă de puritate echivalentă.

Utilaj:

- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm³, $1000 \pm 0,5$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,001$ cm³;
- pipetă dozator cu volum variabil cu capacitatea până la $0,100 \pm 0,0005$ cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- termostat cu temperatura 37±0,5 °C.

1) Sol.citrat trisodic cu 5,5 molecule apă, 38g/l. Soluţia e stabilă, fiind păstrată în vas cu dop rodat la +4 °C timp de o săptămână;

2) Soluţie-tampon stoc (Mihaelis).

Soluţia A: 5,5-dietilbarbituratul de sodiu (medinal), 0,1 moli/l - 20,6 g medinal se dizolvă în apă într-un balon cotat de 1l, apoi volumul soluţiei se aduce pînă la cotă cu apă distilată.

Soluţia B: acid clorhidric 0,1 moli/l.

Soluţia-tampon cu pH necesar se obţine, folosind tabelul de mai jos (tab.4.2):

Tabel 4.2.

pH	Sol.A (cm^3)	Sol.B (cm^3)	Clorura de sodiu NaCl (g)
7,0	268	232	7,43
7,2	277	223	7,38
7,4	290	210	7,30

Soluțiile se amestecă în cantitățile indicate, se adaugă clorură de sodiu și volumul soluției se aduce cu apă distilată pînă la 1l.

Peste 24 ore se verifică pH-ul soluției pregătite cu ajutorul pH-metrului. Soluția se păstrează în vas de sticlă întunecată închisă ermetic la +4 °C. La apariția "fulgilor" soluția este înlocuită cu alta proaspăt pregatită.

3) Clorură de NaCl, 8,5 g/l (soluție fiziologică);

4) Soluție fiziologică-tamponată, pH 7,4. Se pregătește astfel: la 4 volume sol. clorură de sodiu 8,5 g/l se adaugă 1 volum soluție-tampon (Mihaelis). Se păstrează în vas din sticlă întunecată, astupat ermetic la 4 °C. La apariția fulgilor soluția se schimbă.

5) Clorura de calciu, 50 g/l (densitatea 1,040).

Soluția se pregătește din clorură de calciu anhidru obținut prin calcinare pînă la o masă stabilă. Poate fi utilizată soluția 10% clorură de calciu fiolat, densitatea căreia se aduce pînă la 1,040. Soluția se păstrează în vas din sticlă întunecată cu dop rodat.

6) Soluție tamponată de clorură de calciu, 0,025 mol/l, pH 7,4. Se pregătește în modul următor: 55,6 cm^3 sol.clorură de calciu 50 g/l se amestecă cu 500 cm^3 soluție-tampon Mihaelis și se aduce cu apă distilată pînă la 1 l. Se păstrează în vas de sticlă întunecată cu dop de sticlă rodat la t +4 °C. La apariția fulgilor soluția se schimbă cu alta pregătită proaspăt.

7) Suspensie de caolină 0,5%. Înainte de cântărire, caolina se mărunțește într-o piuliță. Suspensia se pregătește din 5 mg caolină uscată la 1 cm^3 soluție fiziologică tamponată. Activitatea diferitor porții de caolină poate fi diferită, de aceia pentru fiecare partidă de caolină e necesar să fie utilizate calcule individuale pentru pregătirea suspensiei, în așa mod,. pentru ca la determinarea timpului de recalcificare activat timpul formării chiagului în plasma bogată în trombocite să nu depășească 60-70 secunde. E necesar ca în timpul efectuării testului suspensia să fie omogenă (se agită!). Suspensia se păstrează la + 4 °C. Caolina uscată se păstrează în flacoane ermetic închise intr-un exicator.

8) Emulsie de eritrofosfatidă. Eritrofosfatida (extract din stroma eritrocitară bogată în fosfolipide) se pune în vînzare sub formă de emulsie 3% (30 g/l) în fiole câte 2,5 cm^3 și 5 cm^3. Emulsia se dizolvă până la 0,1% cu sol.fiziologică, se dozează în eprubete siliconate câte 1 cm^3, se închid ermetic și se păstrează la –20 °C timp de câteva luni. Emulsia de lucru 0,1 g/l (0,01%) se pregătește în ziua examinării. Conținutul eprubetei se dezgheață la 37 °C și se dizolvă cu sol.fiziologică tamponată de 10 ori (1:9). Timpul de coagulare a plasmei adunate a donatorilor cu folosirea emulsiei de lucru constituie 80-100c.

9) Amestec de eritrofosfatidă caolinică. Pentru pregătirea amestecului în emulsia de eritrofosfatidă 0,1 g/l se adaugă caolină praf uscată reeșind din calculul 5 mg la 1 cm^3 amestec. Timpul de coagulare a plasmei normale adunate a donatorilor constituie 40-48 secunde. La +4 °C emulsia este stabilă timp de 48 ore. Reactivul se verifică în fiecare zi.

10) Suspensie de tromboplastină și amestec de tromboplastină calcică. Proba de tromboplastină pulbere uscată se cântărește în așa fel ca activitatea amestecului de tromboplastină calcică în plasma donatorilor să fie nu mai mult de 18-20 s (de obicei se ia 20-30 mg/ cm^3). Tromboplastina uscată se omogenează cu o baghetă de sticlă într-o eprubetă de centrifugare cu 1-2 cm3 sol.fiziologică tamponată, apoi treptat se adaugă cantitatea necesară de sol. fiziologică tamponată. Suspensia se incubează 30 minute în baia cu apă la 37 °C fiind supusă agitării periodice, se centrifughează 3-7 min la 1000 tur/min, apoi supernatantul se extrage și se amestică în părți egale cu sol. clorură de sodiu tamponată 0,025 mol/l.

Pentru prevenirea contaminării bacteriene și obținerea unei stabilități mai mari la suspensia de tromboplastină se adaugă conservant (5 cm^3 conservant la 95 cm^3 suspensie). Conservantul se pregătește în felul urmator: 80 cm^3 sol. fenol 5% se amestecă cu 20 cm^3 glicerină. Suspensia de tromboplastină cu

conservant se păstrează timp de o lună la + 4 °C. Tromboplastina calcică se pregăteşte *ex tempore*. Activitatea ei se verifică la începutul şi în timpul lucrului cu ajutorul plasmei adunate a donatorilor, iar rezultatelwe se iau în consideraţie la calcule.

Notă. Se foloseşte tromboplastină cu activitatea 16-20 secunde.

11) Trombina. Sol. de trombină cu activitatea 5-7 s se pregăteşte dizolvînd trombină praf uscată în sol. fiziologică tamponată. Trombina praf uscată se cântăreşte în aşa fel ca 0,1 cm³ sol. trombină să coaguleze 0,1 cm³ plasmă adunată a donatorilor în 5-7 s.

Pentru efectuarea unor teste se foloseşte trombina mai puţin activă: cu activitatea - 15-30 s. Astfel de trombină se obţine prin diluarea trombinei active cu ser fiziologic tamponat şi se verifică activitatea ei pe plasma adunată a donatorilor. Diluţia aproximativă pentru obţinerea trombinei cu activitatea 28-32 s: se amestecă 0,5 cm³ trombină activă cu 3 cm³ sol. fiziologică tamponată.

Trombina cu activitatea 5-7 s este stabilă timp de 2-3 zile la +4 °C în veselă de plastic sau siliconată închisă ermetic. Trombina cu activitatea mai mică se pregăteşte *ex tempore*.

12) Sol. de sulfat de protamină 1% în fiole (10 g/l);

13) Acid acetic 10 g/l: 0,95 cm³ acid acetic glacial se toarnă într-un balon cotat de 100 cm³ şi se aduce volumul până la cotă cu apă distilată. Se păstrează în vas de sticlă brună cu dop rodat.

14) Sol.tampon-borat, pH 9,0: 1,0 g tetraborat de sodiu (Na_4B0_3. 10 H_20) şi 9,0 g clorură de sodiu se dizolvă în 200-300 cm³ apă distilată într-un balon cotat. Volumul soluţiei tampon se aduce pînă la 1 l. Este stabilă la 4 °C în vas etans inchis.

15) Sol. stock de acid monoiodacetic sau monoiodacetat de sodiu, 20 g/l: 1 g de acid sau sarea lui de sodiu se dizolvă în apă distilată liberă de bioxid de carbon şi se aduce volumul până la 50 cm³. În timpul pregătirii reactivului se vor respecta toate regulile de precauţie (substanţă caustică!). Se păstrează în vas de sticlă întunecată la 4 °C cu dop de sticlă şlefuit. Din substanţa de bază *ex tempore* se pregătesc diluţiile conform tabelului 4.3:

Tabel 4.3.

Sol.stock (cm³)	Apa distilată (cm³)	Concentraţia acidului monoiodacetic în amestec (%)
0,05	0,95	1
0,15	0,85	3
0,25	0,75	5
0,35	0,65	7

16) Ureea, 5 mol/l: 300 g uree se dizolvă la încălzire în apă; după răcire volumul substanţei se aduce pînă la 1 l.

17) Sulfat de amoniu: 5,5 g sulfat de amoniu se dizolvă în 150 cm³ apă distilată.

18) Sol. alaun de amoniu şi aluminiu (hidric cu $12H_2O$): 19,17 g se dizolvă în 250,0 cm³ apă distilată.

19) Pregătirea gelului de hidrooxid de aluminiu: sulfatul de amoniu se încălzeşte până la 63° C, amestecul de alaun la fel se încălzeşte pînă la 58 °C. La sol. de sulfat de amoniu se adaugă 25,0 cm³ sol.amoniac de 10%. Se agită energic şi se toarnă tot volumul în amestecul de alaun. Amestecul se menţine la 58° C agitând-ul încontinuu timp de 10 minute. Amestecul fierbinte se centrifugează la 3000 tur/min timp de 10 minute. Supernatantul se aruncă, iar gelul se spală de 5 ori: La început - sedimentul se amestecă cu o baghetă de sticlă cu prima apă amoniacală (375 cm³ apă distilată + 2,5 cm³ amoniac 10%) şi se centrifughează la 3000 tur/min timp de 10 minute;

A doua oară - sedimentul obţinut se "spală" cu a doua apă amoniacală (375 cm³ apă distilată + 5 cm³ amoniac 10%) şi se separă prin centrifugare în aceleaşi condiţii. A III-a, IV-a, V-a - oară gelul se spală cu apă distilată fără amoniac prin centrifugare ulterioară. Gelul este stabil timp de 3-4 luni fiind păstrat în vas din sticlă întunecată cu dop de sticlă slefuită. Gelul de lucru se pregăteşte din gelul de baza diluînd-ul cu apă distilată pînă la o aşa consistenţă ca să poată fi aspirat în pipetă. E stabil 2 săptămîni la păstrare în vas din sticlă întunecată cu dop şlefuit.

20) Sulfat de bariu;

21) Plasma normală adunată a donatorilor. Se utilizează pentru verificarea reactivilor şi pentru efectuarea probelor de corectare a inhibiţiei. Se ia sânge venos de la 3-5 donatori recent examinaţi coagulologic, se obţine plasma bogată şi săracă în trombocite. Plasma obţinută de la toţi donatorii se amestecă în cantităţi egale şi se repartizează în eprubete de plastic sau siliconate de mărimea 10-13 mm x 120 mm, câte 1,0-1,5 cm^3, etans se închid şi se păstrează la –20 °C nu mai mult de 2 săptămîni. Pentru explorări plasma se dezgheaţă la 37° C (congelarea repetată este interzisă). În timpul explorării plasma normală se păstrează în baia cu gheaţă.

22) Plasma normală absorbită citrată. Se utilizează ca sursă de factori V şi VIII.

Plasma normală citrată săracă în plachete sanguine se tratează cu gel de hidroxid de aluminiu pentru adsorbirea factorilor II,VII,IX şi X reeşind din următorul calcul: la 10 cm^3 plasmă normală - 1 cm^3 gel. Amestecul plasmei cu gel se toarnă în eprubete siliconate de centrifugare şi se ţine 3 minute în baia cu apă la 37° C, la agitare periodică. Apoi se înlătură gelul prin centrifugare la 3000-4000 tur/min timp de 20 minute. Dacă ca stabilizator a fost folosit oxalatul de sodiu, atunci absorbţia se petrece cu sulfat de bariu 100 mg la 1 cm^3 plasmă.

Se încălzeşte la 37° C timp de 10 min, se agită minuţios cu bagheta de sticlă, apoi se înlătură sulfatul de bariu prin centrifugare la 3000-4000 tur/min timp de 20 minute. Supernatantul se repartizează câte 0,1 cm^3 în eprubete de plastic, se închid etans şi se păstrează la –20 °C nu mai mult de 2 săptămîni.

Timpul protrombinic a plasmei normale absorbite trebuie să fie nu mai mic de 3 minute. Plasma *ex tempore* se dezgheaţă la 37° C (congelarea repetată se interzice).

23) Serul sangvin. Se utilizează ca sursă a factorilor IX;X;XI şi XII. Se colectează sânge venos de la 3-5 donatori în eprubete nesiliconate fără anticoagulant şi se incubează în termostat la 37 °C 4 ore. Serul obţinut se extrage şi se centrifughează la 1500 tur/min timp de 3-5 min şi se separă de eritrocitele sedimentate. Serurile obţinute se amestecă în proporţii egale şi se repartizează câte 1 cm^3 în eprubete, se închid etans şi se pastrează la –20° C timp de 2 săptămîni. Pentru executarea probelor se dezgheaţă la 37° C (se interzice congelarea repetată).

4.3 METODELE DE EXAMINARE A HEMOSTAZEI

4.3.1 Determinarea timpului de coagulare a sângelui capilar

Condiţiile tehnice care trebuie asigurate la determinarea dată :

1. Pipetele de tip Pancenkov folosite trebuie să fie curate şi absolut uscate.
2. Unghiul de înclinare a capilarului trebuie să varieze în limitele 30-40 grade strict şi înclinarea se face lent, fin.

Tehnica de lucru. Se înţeapă pulpa degetului şi prima picătură se înlătură. În capilarul de tip Pancenkov se recoltează o coloana de sânge de 25 mm. Imediat se porneşte cronometrul. Înclinind pipeta Pancenkov sub un unghi de 30-45 grade mişcăm coloana de sânge la mijlocul pipetei şi îl reţinem în poziţie orizontală. Apoi peste fiecare 30 secunde se înclină capilarul la 30-45 grade într-o direcţie, apoi îl aducem în poziţie orizontală. Peste 30 secunde se înclină din nou, dar în direcţie opusă. Coloana de sânge se deplasează nu mai mult decât cu 10 mm. Mişcarea liberă a coloanei de sânge în capilar indică că coagularea încă n-a început. Dacă coloana de sânge se mişcă mai greu sau dacă pe pereţii pipetei se formează cheaguri mici de sânge aceasta indică la începutul coagulării sângelui. Coagularea deplină a sângelui se înregistrează atunci când coloana de sânge nu se mai mişcă.

În mod normal începutul coagulării sângelui variază de la 30 secunde până la 2 minute; coagularea deplină - de la 3 până la 5 minute.

Valoarea determinării timpului de coagulare. Timpul de coagulare poate fi crescut în stările de hipocoagulabilitate însă un timp de coagulare normal nu exclude un deficit al coagulării. E o greşală a se baza numai pe rezultatele acestui test, fără a face un studiu complet al hemostazei îndeosebi înainte de intervenţii chirurgicale.

4.3.2 Determinarea timpului de sângerare

Principiu. Metoda se bazează pe determinarea timpului de sângerare din momentul înțepării pielii până în momentul terminării sângerării.

Materialul necesar: lancetă, vată, alcool, hârtie de filtru, cronometru.

Tehnica de lucru. Se dezinfectează, se usucă și se înțeapă pulpa degetului, 3-4 mm adâncime. Cronometrul se pornește în momentul înțepării. Se absorb cu o hârtie de filtru, din 30 în 30 secunde, picăturile de sânge care ies spontan fără nici o manevră de presiune. Treptat picăturile de sânge de pe hârtia de filtru devin din ce în ce mai mici. Se oprește cronometru, când hârtia de filtru nu se mai pătează de sânge.

Timpul de sângerare normal : până la 3 minute.

Timpi superiori, peste 5 minute, sunt întotdeauna patologici.

4.3.3 Determinarea timpului de recalcificare activat al plasmei (timpul caolinic)

Principiu. Se determină timpul coagulării plasmei citrate bogate în trombocite în prezența unei cantități optimale de calciu în condițiile standardizării cu caolină în faza de contact a procesului de coagulare.

Reactivi:

1. Clorura de calciu tamponată 0,025 mol/l.
2. Suspensie 0,5% caolină. Suspensia de caolină e necesar să fie agitată energic permanent pentru a obține o masă omogenă.

Utilaj: - eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,002$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,200 \pm 0,005$ cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura $37\pm0,5$ °C.

Tehnica de lucru. Se examinează plasma citrată bogată în trombocite. Într-o eprubetă se amestecă 0,1 cm^3 plasmă cu 0,1 cm^3 suspensie de caolină, se agită energic și se incubează în hidrotermostat la 37° C timp de 5 minute (timp necesar pentru activarea totală a factorilor de contact). După 5 minute se adaugă 0,2 cm^3 sol. clorură de calciu 0,025 mol/l preliminar încălzită la 37° C. Concomitent se pornește cronometrul. Eprubeta se înclină peste fiecare 3-5 s și se urmărește timpul de formare a cheagului. Proba se repetă de 2-3 ori și se ia rezultatul mediu. Limita fiziologica 50-70 s.

4.3.4 Determinarea timpului de tromboplastină parțial activat (TTPA).

Principiu. Se determină timpul de coagulare a plasmei citrate sărace în trombocite la adăugarea unei cantități optimale de calciu în condițiile standardizării activării de contact (caolinice) și fosfolipidice (cu eritrofosfatidă) a procesului de coagulare.

Reactivi:

1. Clorură de calciu tamponată, 0,025 mol/l.
2. Amestec eritrofosfătid-caolinică.

Utilaj:
- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,002$ cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura $37\pm0,5$ °C.

Tehnica de lucru. Se examinează plasma citratată saracă în trombocite. Într-o eprubetă se amestecă

0,1 cm³ plasmă cu 0,1 cm³ amestec eritrofosfatidă-caolină. Se agită energic şi se incubează la 37° C timp de 5 min (timpul necesar pentru activarea totală a fazei de contact). După 5 min se adaugă 0,1 cm³ sol. 0,025 mol/l clorură de calciu în prealabil încălzită până la 37 °C şi se porneşte cronometrul. Eprubeta se înclină uşor peste fiecare 3-5 s şi se urmăreşte timpul de aparitie a chiagului. Proba se repeta de 2-3 ori, media se ia ca rezultat.

4.3.5 Probele de diferenţiere în caz de TTPA alungit şi cantitatea de fibrinogen normală

În caz când TTPA este mai mare de 60 s se efectuează probele de corectare a inhibiţiei. Se utilizează aceeaşi reactivi descrişi pentru TTPA şi deasemenea plasma normală citratată săracă în trombocite a donatorilor de sânge.

Tehnica de lucru. În eprubete siliconate se amestecă plasma normală a donatorilor cu plasma bolnavilor în proporţiile indicate în tabelul 4.4:

Tabel 4.4.

Nr. eprubetelor	Plasma normală	Plasma de testat
1.	10% (0,02 cm³)	90% (0,18 cm³)
2.	50% (0,10 cm³)	50% (0,10 cm³)
3.	90% (0,18 cm³)	10% (0,02 cm³)

Din fiecare diluţie se pipetează câte 0,1 cm³ şi se determină TTPA.

Aprecierea rezultatelor. Dacă în eprubetele N 1 şi N 2 TTPA nu revine la norma această indică excesul de anticoagulanţi. Dacă normalizarea TTPA alungită se petrece în eprubeta N 1, adică la adăugarea a 10% de plasmă normală acest fapt indică dificitul factorilor plasmatici. În acest caz se efectuază probele descrise în p.4.3.5.1.

4.3.5.1. Probele de corecţie pentru examinarea calitativă a dificitului unor factori anumiţi

Reactivi:

1. Plasma normală absorbită a donatorilor (se diluează cu ser fiziologic tamponat în raportul 1:4).
2. Serul normal al donatorilor (se diluiază cu ser.fiziologic tamponat în raport 1:9).
3. Plasma normală citratată săracă în trombocite a donatorilor.
4. Ser.fiziologic tamponat.

Utilaj:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,002 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura 37±0,5 °C.

Tehnica de lucru. În eprubete siliconate se pregatesc următoarele diluţii:

1. Plasma normală a donatorului cu ser fiziologic tamponat în proporţie 1:1.
2. Plasma de testat cu ser fiziologic tamponat în proporţie 1:1.
3. Plasma de testat cu plasma absorbită diluata a donatorului în proporţie 1:1.
4. Plasma de testat cu serul normal diluat al donatorilor în proporţie 1:1.

Din fiecare diluţie se pipeteaza câte 0,1 cm³ şi se determina TTPA.

Aprecierea rezultatelor. Valoarea normală se considera indicii din eprubeta N 1.

Normalizarea TTPA în amestecul din eprubetele N 3 indică dificitul factorilor V şi VIII, normalizarea TTPA în amestecul din eprubeta N 4 - dificitul factorilor IX şi X. Normalizarea concomitenta în eprubetele N 3 şi N 4 indică dificitul factorului XI şi factorului XII. În cazul dificitului factorilor fazei de contact nu este o diferenţă semnificativă dintre TPT şi TTPA în plasma examinată.

Precizarea dificitului fiecărui factor concret se stabileşte prin compararea rezultatelor testelor TTPA cu probele de corecţie şi a timpului trombinic cu probele de corecţie după tabelul 4.5:

Tabel 4.5

Date iniţiale		TTPA		Timpul protrombinic (TP)		Factor deficitar
TTPA	TP	Cu plasma adsorbită	Cu ser sanguin	Cu plasma Adsorbită	Cu ser sanguin	
Prelungit	Normal	corectare	nu-i corectare	-	-	VIII
Prelungit	Normal	nu-i corectare	corectare	-	-	IX
Prelungit	Normal	corectare	corectare	-	-	XI,XII
Prelungit	prelun.	corectare	nu-i corectare	Corectare	nu-i corectare	V
Prelungit	prelun.	nu-i corectare	Corectare	nu-i corectare	corectare	X
Prelungit	prelun.	nu-i corectare	nu-i corectare	nu-i corectare	nu-i corectare	II
Normal	prelun.	nu-i corectare	nu-i corectare	nu-i corectare	corectare	VII

Valorile normale : 38-55 s.

4.3.6 Determinarea timpului tromboplastinic parţial (TTP)

Ordinea executării testului TTP este aceiaşi ca şi al TTPA, dar se utilizează 0,1 g/l emulsie de eritrofosfatidă fără adios de caolină.

Valori normale: 70-110 s.

4.3.7 Determinarea timpului protrombinic (tromboplastinic, TP), sau indicelui protrombinic (IP).

Principiu. Se determină timpul coagulării plasmei citratate, sărace în trombocite în prezenţa unei cantităţi optimale de calciu şi excesului de tromboplastină.

Reactivi:

1. Clorura de calciu sol.tamponată, 0,025 mol/l,
2. Tromboplastina calcică se prepară amestecând în porţii egale tromboplastina cu soluţia de clorură de calciu 0,025 mol/l.
3. Plasma normală citratată săracă în trombocite a donatorilor de sânge.

Utilajul necesar:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- eprubete de sticlă de centrifugare;
- eprubete de plastic cu dop;
- pipetă dozator cu capacitatea $0{,}100 \pm 0{,}002$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0{,}200 \pm 0{,}005$ cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura $37 \pm 0{,}5$ °C.

Tehnica de lucru. Se examinează plasma săracă în trombocite. Într-o eprubetă ţinută în baie la 37° C se pipetează 0,1 cm^3 plasmă şi se include cronometrul. La a 10 secunda se adaugă 0,2 cm^3 tromboplastină calcică şi se constată timpul formării chiagului, periodic scoţînd eprubeta, repede din apă şi înclinînd-o în aşa fel încât conţinutul să se prelingă uşor pe peretele sticlei. Timpul se fixează exact de la momentul adăugarii tromboplastinei calcice şi pînă la apariţia cheagului. Proba se repetă de 2-3 ori. Ca rezultat se ia media dintre datele deţinute.

Aprecierea rezultatului. Se determină timpul protrombinic (TP) după care se recalculează indicele protrombinic (IP), adică raportul dintre timpul coagulării plasmei normale a donatorilor şi timpul coagulării plasmei pacientului exprimată în procente.

Valori normale: 90% - 105 % (IP)

Notă. Procentul de IP nu este echivalent cu procentul activităţii factorilor complexului protrombinic, obţinut

din curbele diluțiilor plasmei normale a donatorilor. Curba diluțiilor reflectă adevărata activitate de coagulare sumară a factorilor complexului protrombinic, în timp ce procentele indicelui protrombinic sunt relative.

Din datele laboratorului interclinic coagulologic a Academiei Medicale I. Secenov 15%-25% din activitatea complexului protrombinic după curba diluțiilor (nivelul terapeutic la tratarea cu antivitamine K) corespunde 30-40% IP.

De rând cu IP pentru controlul terapiei cu antivitamine K poate fi folosită valoarea inversă, adică raportul protrombinic (RP):

$$RP = \frac{TP\ al\ pacientului}{TP\ al\ donatorului};$$

În normă RP constituie 0,90 – 1,2.

O altă metodă de apreciere a rezultatelor testului protrombinic recomendat de OMS constă în exprimarea rezultatelor sub formă de raport internațional normalizat (INR – abreviatură engleză), care se calculează după formula:

$$INR = \left[\frac{TP\ al\ pacientului}{TP\ al\ donatorului}\right]^{ISI},$$

unde *ISI* prezintă indicele de sensibilitate internațional al tromboplastinei. Pentru diferite tromboplastine ISI variază între 0,94 – 2,8. Cu cât mai mare este *ISI* cu atât el este mai puțin sensibil la schimbarea conținutului componentelor complexului protrombinic și prin urmare cu atât mai mare poate fi eroarea la determinarea protrombinei. S-a constatat că folosirea tromboplastinelor cu ISI <2,0 asigură o coincidență bună a rezultatelor. Scopul principal al INR constă în asigurarea optimizării terapiei cu anticoagulante orale. Terapia anticoagulantă (INR de la 2,0 până la 3,5) asigură profilaxia efectivă a trombozelor cu un risc scăzut de hemoragii.

4.3.7.1 Determinarea timpului protrombinic în sângele capilar

Principiu: Același.

Reactivi:

1. Citrat de sodiu cristalin cu 5,5 molecule H_2O, soluție 38 g/l, restul reactivilor și utilajul sunt aceleiași ca în metoda precedentă.

Utilaj:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu volum variabil și capacitatea 0,005-0,100 ± 0,0005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,020 ± 0,0002 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura 37±0,5 °C.

Tehnica de lucru. În eprubete nesiliconate 8 mm x 100 mm se pipetează 0,02 cm^3 sol. citrat de sodiu 38 g/l. Pulpa degetului pacientului se prelucrează cu alcool etilic și se lasă să se usuce, apoi se sparge cu lanceta sterilă. Într-o eprubetă se colectează 0,08 cm^3 sânge, și apoi se transferă în eprubeta cu citrat de sodiu și se agită. În așa mod se colectează sângele pacientului în 2-3 eprubete. Eprubetele se introduc în hidrotermostat. Determinarea TP se execută după metoda descrisă mai sus.

Notă:

1. Dacă activitatea tromboplastinei se determină în plasma normală, și nu în sângele capilar, atunci la valoarea obținută se adaugă 2 s și se compară cu timpul obținut în sângele capilar.

2. Determinarea timpului protrombinic în sângele capilar se folosește pe larg pentru controlul terapiei cu anticoagulante cu acțiune indirectă, deoarece acest test se efectuază frecvent (de 2-3 ori pe săptămînă) și nu necesită puncție venoasă.

3. Neajunsul metodei constă în posibilitatea erorilor tehnice la colectarea sângelui (nerespectarea raportului sânge-anticoagulant, imposibilitatea de a ține cont de valorile hematocritului și a.) ceea ce poate duce la denaturarea rezultatelor obținute.

4.3.8 Determinarea timpului de trombină

Principiu. Se determină timpul coagulării plasmei citratice sărace în trombocite la acţiunea unei cantităţi standard de trombină.

Reactivi:

1) Sol.trombină cu activitatea 30 s.
2) Sol.trombină cu activitatea 15 s.
3) Sol.fiziologică tamponată.

Activitatea sol. de trombină se verifică de câteva ori în procesul testului în plasma normală a donatorilor de sânge.

Utilajul necesar:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- eprubete de sticlă siliconate;
- eprubete de plastic cu dop;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0002 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura 37±0,5 °C.

Tehnica de lucru. Se examinează plasma săraca în trombocite. Eprubeta ce conţine 0,1 cm³ plasmă de cercetat şi 0,1 cm³ sol.fiziologică tamponată se lasă în hidrotermostat la 37° C. La secunda 10-cea de incubare se pipetează 0,1 cm³ sol.trombină cu activitatea 30 sec. şi se constată timpul formării chiagului, scoţind rapid eprubeta din apă şi puţin înclinînd-o la intervale egale de timp. Timpul se citeşte de la momentul adăugării sol.de trombină până la formarea chiagului. Testul se repetă de 2-3 ori. Media indicilor obţinuţi exprimă rezultatul.

Valori normale 28-32 secunde.

Notă. Timpul de trombină se consideră alungit, dacă în comparaţie cu norma e mărit mai mult de 5 secunde.

Pentru controlul terapiei cu heparină se foloseşte sol. de trombină cu activitatea 15 s. Tehnica efectuării testului e aceaşi.

Valori normale 15-17 secunde.

4.3.8.1 Determinarea timpului de trombină cu sulfatul de protamină

Principiu. Se determină timpul de trombină în plasma săracă în trombocite în prezenţa sulfatului de protamină pentru depistarea hiperheparinemiei.

Reactivii şi utilajul sunt aceiaşi ca şi la determinarea timpului de trombină.

2. Sol. de sulfat de protamină, 0,1 g/l (10 μg/cm³). La 0,1 cm³ sol. sulfat de protamină 10 g/l se adaugă 9,9 cm³ sol.fiziologică tamponată. Se pregateste *ex tempore.*

Utilaj:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0002 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura 37±0,5 °C.

Tehnica de lucru. Se pipetează într-o eprubetă de sticlă nesiliconată 0,1 cm³ plasmă de cercetat şi 0,1 cm³ sol. sulfat de protamină 0,1 g/l. Eprubeta se incubează în hidrotermostat la 37° C . După 10 s de incubare se pipetează 0,1 cm³ trombină cu activitatea 30 s şi se masoară timpul de formare a chiagului, scoţind eprubeta din apă şi înclinînd-o uşor. Timpul se citeşte de la momentul adăugării trombinei până la formarea chiagului de fibrină.

Valori normale : 20-22 secunde

Notă:

1. Probele cu trombină cu activitatea 30 s sunt mai sensibile pentru depistarea produselor de degradare a fibrinei, anticoagulanţilor patologici circulanţi şi a dozelor mici de heparină. Probele cu trombină cu

activitatea 15 s se efectuază pentru controlul terapiei cu heparină (trombina cu activitatea 30 s în acest caz foarte des nu formează chiagul din cauza unui nivel inalt de heparină în sânge).

2. În caz de TT prelungit şi nivel normal de fibrinogen este necesar de efectuat testul de trombină cu sulfatul de protamină. Reducerea TT prelungit pînă la valorile normale (determinate în plasma normală a donatorilor) şi majorarea diferenţei dintre TT şi TT cu sulfatul de protamină mai mult decât 10 s în comparaţie cu norma, se apreciază ca o creştere a nivelului de heparină (complexului heparină-antitrombină III) în sânge. Dacă TT prelungit nu se micşorează până la normă cu sulfatul de protamină, acest fapt indică la acumularea produselor de degradare a fibrinei în sânge.

3. Diferenţierea mai exactă dintre hiperheparinemie şi majorarea nivelului produselor de degradare a fibrinei în sânge se efectuează cu ajutorul veninului de şarpe de tipul reptilazei, adică determinarea aşa numitului timp reptilazic.

4.3.9 Determinarea timpului de reptilază

Principiu. Se determină timpul de coagulare a plasmei citratice sărace în trombocite sub acţiunea enzimelor proteolitice extrase din venin de şarpe cu acţiune similare cu trombina. Spre deosebire de trombină reptilaza nu este influenţată de heparină. Reptilaza acţionează asupra fibrinogenului cu eliberarea fibrinopeptidei A şi dând naştere la monomeri de fibrină.

Reactivi:

1. Sol.de reptilază cu o activitate, care realizează un timp de coagulare a plasmei normale a donatorilor egal cu 28-32 s.
2. Plasma normală săracă în trombocite.

Utilajul necesar:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- eprubete de sticlă siliconate;
- eprubete de plastic cu dop;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,200 \pm 0,0005$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0002$ cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura $37\pm0,5$ °C.

Tehnica de lucru. Se examinează plasma pacientului săracă în trombocite. Eprubetele nesiliconate ce conţin 0,1 cm^3plasmă de cercetat se incubează 60 s în hidrotermostat la 37^0 C, după ce se adaugpă 0,2 cm^3 sol. reptilază şi se urmăreşte timpul formării chiagului, înclinînd uşor eprubeta peste intervale egale de timp.

Valori normale 28-32 secunde.

Notă. Reptilaza, posedând o acţiune incompletă asemănătoare cu trombina, scindează de la fibrinogen numai 2 peptide, transformîndu-l în fibrină chiar în prezenţa complexului heparină-antitrombină III, pe când unele dereglări moleculare ale fibrinogenului, produsele de degradare a fibrinogenului şi un şir de proteine patologice (de exemplu antitrombina V) provoacă prelungirea timpului de reptilază. Prin urmare, în caz de alungire a timpului de trombină timpul de reptilază (TR) normal mărturiseşte despre o hiperheparinemie, iar prelungirea TR în combinaţie cu nivelul normal de fibrinogen vorbeşte despre nivelul crescut de produse de degradare a fibrinei în sânge.

4.3.10 Determinarea fibrinogenului prin metoda gravidimetrică

Principiu. Se spală, se usucă şi se cântăreşte chiagul de fibrină format la adăugarea soluţiei de trombină cu o activitate standard la un volum anumit de plasmă citratată.

Reactivi:

1.Sol.de citrat de sodiu 3,8%;
2.Sol. de NaCl 0,85%;
3. Sol. de trombină pregătită pe sol. de NaCl, 0,85% cu o activitatea egală cu 10 s.

Utilajul necesar:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,200 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,002 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura 37±0,5 °C;
- balanță cu torsiune cu sarcina maximală 500,0±1,0 mg.

Tehnica de lucru. Se pipetează într-o eprubetă de sticlă nesiliconată 1,0 cm^3 plasmă de cercetat și se adaugă 0,2 cm^3 sol. de trombină și imediat se introduce în eprubetă o baghetă de sticlă. Se include cronometrul și eprubeta se incubează în hidrotermostat la 37 °C.

Cheagul de fibrină care se formează se înfășoară pe bagheta de sticlă, care se extrage din eprubetă peste 10 min de incubatie (dacă cheagul nu poate fi extras, atunci conținutul eprubetei se transferă într-o cutie Petri). Apoi cheagul format se recuperează pe un filtru de hârtie, se usucă și se cântărește la balanța cu torsiune.

Valori normale. Masa cheagului format constituie în normă 9 – 15 mg. La înmulțirea masei de fibrină uscată la coeficientul 25 se obțin valorile concentrației fibrinogenului în g/l. Norma constituie 2 – 4 g/l.

4.3.11 Determinarea timpului de liză a cheagului euglobulinic

Principiu. Se determină timpul de liză spontană a cheagului obținut din fracția euglobulinică a plasmei sărace în trombocite la adăugarea soluției de clorură de calciu.

Reactivi:

1.Sol.de citrat de sodiu 3,8%;

2.Sol. acid acetic 1%;

3. Sol. de clorură de calciu 0,025 mol/l.

4. Tampon borat pH 9,0: se dizolvă 1 g de borax ($Na_2B_40_7$. 10 H_2O) și 9,0 g NaCl într-un 1L de H_2O distilată.

5. H_2O distilată.

Utilaj:

- eprubete de sticlă nesiliconate, 8 x 100 mm;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,02 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil cu capacitatea până la 1,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil cu capacitatea până la 0,200 ± 0,0005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- hidrotermostat cu temperatura 37±0,5 °C.

Tehnica de lucru. Se pipetează într-o eprubetă 8,0 cm^3 H_2O distilată, 0,15 cm^3 sol. acid acetic 1% și 0,5 cm^3 plasmă de cercetat. Conținutul se amestecă și eprubeta se pune în frigider la + 4 °C pe 30 min. Apoi eprubeta se centrifughează 5 min la 1500 tur/min, supernatantul se aruncă și se înlătură resturile de lichid răsturnând eprubeta cu fundul în sus pe hârtia de filtru. După aceasta, în eprubetă se introduce 0,5 cm^3 tampon borat și amestecând atent cu bagheta de sticlă se dizolvă precipitatul de euglobuline. Amestecul obținut se transferă în două eprubete câte 0,2 cm^3. Ambele eprubete se pun în hidrotermostat, se adaugă câte 0,2 cm^3 sol. de clorură de calciu. Peste câteva minute în eprubete se formează cheaguri și începând cu acest moment se începe măsurarea timpului de liză a cheagurilor de fibrină .

Valorile normale – 3 – 5 ore.

CAPITOLUL 5

CERCETAREA EJACULATULUI

5.1. Recoltarea ejaculatului şi proprietăţile lui

Cercetarea ejaculatului este de o importanţă hotărâtoare pentru diagnosticarea sterilităţii masculine. Examinarea cuplurilor conjugale care se adresează în instituţiile specializate în legătură cu sterilitatea se începe cu cercetarea spermei soţului sau cu cercetarea probelor postcoitale.

Utilizarea metodelor standardizate de cercetare a ejaculatului permite medicului clinician de a obţine informaţia necesară despre starea sistemului de reproducere a pacientului şi a funcţionalităţii acestuia.

Metoda de preferinţă pentru obţinerea ejaculatului este masturbarea. Ejaculatul se colectează după 3-5 zile de abstinenţă sexuală. În această perioadă e interzisă folosirea alcoolului, preparatelor medicamentoase etc., şi totodată se va evita efectuarea masajului prostatei şi veziculelor seminale. Ejaculatul se colectează într-o încăpere special amenajată, în veselă de sticlă sau teflon, de dorit gradată. Este inadmisibilă colectarea ejaculatului în prezervative sau prin întreruperea actului sexual. În unele cazuri, se permite de a aduce sperma colectată în condiţii de casă dar numai în veselă de laborator. În acest caz sperma este transportată fiind menţinută la temperatura corpului (subţioară), deoarece la scăderea temperaturii mobilitatea spermatozoizilor se modifică. După recepţionarea ejaculatului acesta se va introduce imediat în termostat la 37 °C. Măsurarea volumului ejaculatului se va efectua cu o precizie de până la 0,1 cm^3. În normă volumul ejaculatului se află în limitele 2,0-6,0 cm^3, în mediu 3,0-3,5 cm^3.

Ejaculatul normal reprezintă un amestec de secrete ale prostatei (30-35%), veziculelor seminale (60-65%) şi a glandelor Cowper (bulbouretrale) şi epididemale. Imediat după ejaculare sperma reprezintă un cheag, care se formează sub acţiunea coagulazei, o enzimă a secretului veziculelor seminale. După 5-30 min se urmăreste fenomenul de "lichifiere" care depinde de activitatea fermenţilor proteolitici a lichidului prostatic, de aceea cercetarea ejaculatului se incepe după 1 oră de la ejacurare, înregistrându-se totodată în prealabil timpul de lichefiere.

Culoarea. În normă ejaculatul are o culoare alb-surie cu opalescenţă. O nuanţă gălbuie apare în caz de abstinenţă sexuală indelungată sau la prezenţa diferitor procese inflamatorii a glandelor sistemului reproductiv masculin. În dependenţă de gradul de pronunţare a hemospermiei, ejaculatul poate avea nuanţe de la roz până la roşu intensiv. În caz de aspermie şi azoospermie ejaculatul poate fi transparent.

Mirosul. Mirosul ejaculatului normal aminteşte de mirosul florilor de castan, şi se datorează prezenţei sperminei.

5.1.1. Aprecierea viscozităţii

Viscozitatea ejaculatului se determină după lichefierea lui completă.

Metoda I. Sperma se amestecă minuţios cu o baghetă de sticlă fără a provoca apariţia spumei, apoi bagheta se extrage atent şi se apreciază vizual lungimea firului ce se întinde de pe ea. În normă această mărime se află în limitele 1-5 mm.

Metoda II. Viscozitatea spermei se determină cu ajutorul hemoviscozimetrului. În norma viscozitatea relativă variază între 6,0-6,6.

Pentru a micşora viscozitatea ejaculatului, acesta, înainte de fi supus cercetării ulterioare, se prelucrează cu tripsină reieşind din calculul 1,0 mg/cm^3 de material biologic sau se va proceda la trecerea de 3-5 ori a ejaculatului printr-un ac de seringă de tip "Record" N 840, evitând formarea spumei.

Fenomenul de coagulare şi lighifiere nu se petrece în lipsa secretului veziculelor seminale în ejaculat.

5.1.2. Determinarea pH-ului

Aprecierea pH-ului se efectuează cu ajutorul hârtiei indicatoare sau cu ajutorul pH-metrului cu microelectrozi. În normă reacţia ejaculatului este slab alcalină, pH-ul se află în limitele 7,2-7,6.

5.1.3. Examinarea elementelor celulare în preparatele native la microscop

Utilaj: Microscop, lame, lamele, pipete Pasteur.

Tehnica de lucru. Cercetarea se petrece la temperatura 20-25 °C. După 1 oră de la recoltarea ejaculatului conținutul lichefiat se amestecă bine evitând formarea spumei, apoi cu pipeta Pasteur se transferă o picătură de material pe o lamă curată, se acoperă atent cu o lamelă în așa fel ca sub ea să nu se formeze bule de aer. Preparatul nativ se microscopiază la mărimea x 200 sau x 400. La cercetarea preparatului se depistează elemente celulare și necelulare.

Elemente celulare. Spermatozoizii reprezintă celule mobile cu lungimea de 58-67 μm, la care se distinge capul oval turtit în direcția anterioară-posterioară, corpul și coada. Dacă în preparatul nativ spermatozoizii nu se depistează, atunci ejaculatul se centrifughează la 3000 rotații/min 10 minute. Din sedimentul obținut se prepară frotiuri care apoi se colorează pentru cercetările citologice.

Celulele spermatojenezei. Spermatogoniile, spermatociții de ordinul I și II, spermatidele în preparate native sunt greu de diferențiat de celulele seriei leucocitare, deaceea ele se cercetează numai în frotiuri colorate, pregătite din ejaculat. În ejaculatul normal celulele spermatogenezei constituie 0,5-2% din numărul total de spermatozoizi.

Eritrocite. În normă în preparat eritrocitele lipsesc sau sunt unice. În caz de leziuni, procese inflamatorii și alte patologii în ejaculat pot fi depistate un număr mare de eritrocite (hemospermie).

Leucocite. În ejaculatul normal pot fi depistate leucocite solitare. Numărul lor crește în caz de procese inflamatorii (epididemite, prostatite, uretrite de etiologie diferită). În caz de piospermie frotiurile se colorează după Gram și Ziehl-Nilsen, la fel se efectuează însămânțarea ejaculatului pentru izolarea microflorei și aprecierea sensibilității ei la antibiotice.

Celule epiteliale. În normă se depistează o cantitate neînsemnată de epiteliu prizmatic al zonelor profunde ale uretrei și epididimusului. În ejaculatul normal celulele epiteliale ale prostatei se întâlnesc foarte rar. În diverse procese inflamatorii numărul lor crește considerabil și atunci ele apar sub aspectul unor celule albicioase rotunde de dimensiuni mici cu o distrofie adipoasă pronunțată a citoplasmei. Celulele epiteliale ale prostatei se pot repartiza solitar sau în grupuri, deseori cu leucocitele formând o masă amorfă de dezintegrare printre care se pot distinge numai unele celule aparte.

Celulele gigantice polinucleare - sunt caracteristice pentru procesele inflamatorii cronice, au diametrul până la 50 mkm și mai des au o formă rotungită, conțin 6-30 și mai multe nuclee monomorfe intens colorate și aranjate haotic. Citoplasma este slab-bazofilă și clar conturată. În citoplasmă pot fi diferite incluziuni mici.

Macrofagii. O particularitate caracteristică pentru macrofagi este prezența diferitor incluziuni în citoplasmă. Macrofagii ce fagocitează spermatozoizii - spermatofagii sunt celule mari rotunde cu citoplasma deschisă, des vacuolizată, conținând unul sau câteva nuclee. În citoplasmă se pot depista capetele spermatozoizilor fagocitați. La periferia spermatofagilor de multe ori se pot distinge cozile spermatozoizilor ieșite în afară. Macrofagii se depistează în caz de procese inflamatorii, spermatofagii mai des se întâlnesc în caz de stază prelungită a spermei de diferită proveniență (abstinenție sexuală indelungată, obliterația canalului deferent etc.).

Aglutinarea spermatozoizilor. Aglutinarea spermatozoizilor solitari se apreciază ca (1+), iar dacă sunt aglutinați jumătate din spermatozoizi numai cu capetele atunci acest fapt se apreciază ca (2+), daca se aglutinează jumătate din spermatozoizi cu capetele și cu cozile - (3+), dacă sunt aglutinați aproape toți spermatozoizii - (4+). În normă în ejaculat aglutinații de spermatozoizi nu se întâlnesc.

5.1.4. Examinarea elementelor necelulare în preparatul nativ la microscop

Din elementele necelulare fac parte: cristalele seminale Bether, corpii lipoidici ("granule de lecitină"), care nimeresc în ejaculat din glandele accesorii.

Cristalele seminale Bether. În preparatul nativ se pot întâlni cristale incolore, alungite. Acestea se formează la răcirea ejaculatului și reprezintă săruri - fosfații acizi ai sperminei.

Granulele de lecitină - particule minuscule, mate, în ejaculatul normal se conțin în cantități considerabile. În prostatite numărul lor scade, uneori dispar complet.

Corpuri amiloide - au forma ovală cu structură stratificată tipică, iar partea lor centrală conţine o granulaţie măruntă gălbuie. Se întâlnesc în caz de stază (reţinere) a secretului prostatic.

Mucus. În normă lipseşte. În caz de prostatită sau veziculită în spermă pătrunde o cantitate mare de mucus vâscos şi lipicios, care acoperă spermatozoizii imobilizându-i.

Notă: Numărul de leucocite, eritrocite, celule ale spermatogenezei, granule de lecitină şi corpi de amiloizi se calculează în mediu pentru un câmp de vedere. În caz de necesitate toate aceste elemente se pot număra în camera Goreaev la fel ca şi spermatozoizii. Acest procedeu permite medicului clinician de a urmări eficacitatea terapiei afecţiunilor inflamatorii ale glandelor sexuale accesorii.

5.1.5. Aprecierea mobilităţii spermatozoizilor

Numărătoarea spermatoziozilor mobili se efectuează după 1-1,5 ore de la colectarea ejaculatului în câmpul de vedere limitat al microscopului, apreciindu-se totodată mobilitatea lor.

Utilaj: Microscop cu câmp de vedere limitat (ferestruica Fonio), lame pentru cercetarea ejaculatului prin metoda "picăturii suspendate", lamele, pipete Pasteur. .

Tehnica de lucru. Cercetările se efectuează la temperatura de 20-25^{0}C. Pe o lamă uscată se aplică o picătură de ejaculat bine amestecat şi se acoperă atent cu lamela evitând pătrunderea aerului sub ea. Surplusul de lichid se înlătură cu ajutorul hârtiei de filtru şi preparatul se microscopiază. Se apreciază mobilitatea spermatozoizilor, folosind ocularul x 7 şi obiectivul x 40 cu condesorul coborât, diafragma deschisă. Se numără în câteva câmpuri de vedere câte 100 celule şi se apreciază procentul de spermatozoizi mobili, parţial mobili şi imobili. La fel se apreciază procentul de spermatozoizi cu modificări morfologice care au o formă de mişcare patologică ("de manej", oscilante etc).

Aprecierea rezultatelor. Pentru aprecierea rezultatelor vizuale globale se foloseşte scara cu 4 gradaţii: 4 - mobilitate perfectă (toţi spermatozoizii au o mişcare rectilinie şi o viteză considerabilă); 3 - mobilitate bună (majoritatea spermatozoizilor au o mişcare rectilinie dar o viteză mai redusă); 2 - mobilitate mediocră (majoritatea spermatozoizilor sunt încetiniţi); 1 - mobilitate proastă (mişcarea ascendentă a spermatozoizilor lipseşte); 0 - toţi spermatozoizii sunt imobili (mişcarea spermatozoizilor lipseşte). În ejaculatul normal spermatozoizii cu mobilitate activă constituie 60% şi mai mult, puţin mobili - 10%-20%, imobili - 10%-20%.

Notă. Numărătoarea spermatozoizilor se poate efectua deasemenea şi după 3, 6 şi 24 ore de la recoltare, acest procedeu este important pentru aprecierea capacităţii de fecundare a spermatozoizilor. Pentru observaţia dinamică a mobilităţii spermatozoizilor se foloseşte metoda "picăturii suspendate" utilizată în microbiologie.

5.1.6. Determinarea spermatozoizilor "viabili" şi "neviabili"

Principiu. La colorarea frotiurilor cu eozină spermatozoizii "neviabili" se colorează, iar cei "viabili" rămân incolori.

Reactivi. Sol. de eozină K 50,0 g/l .

Utilaj: Microscop cu obiectiv de imersie, lame, lamele, pipete Pasteur..

Tehnica de lucru. Pe o lamă se aplică o picătură de ejaculat iar alături - o picătură sol. de eozină, apoi ambele picături se amestecă. După 30-60 secunde se pregăteşte frotiul şi se lasă să se usuce. Folosind obiectivul cu imersie se numără nu mai puţin de 200 celule şi se calculează procentul de spermatozoizi coloraţi (neviabili) şi necoloraţi (viabili).

În ejaculatul normal se conţin 90-95% de spermatozoizi viabili.

Notă. Pentru contrastarea frotuilui pe lamă se aplică 1 picătură de soluţie apoasă de nigrozină 10,0 g/l.

5.1.7. Stimularea mobilităţii spermatozoizilor ("reanimarea")

În caz de depistare în ejaculat a unui număr mare de spermatozoizi viabili dar imobili, se efectuează proba de "reanimare" cu soluţii speciale.

Reactivi: Sol.1: 3,0 g glucoză, 0,6 g fosfat disodic, 0,2 g NaCl, 0,01 g fosfat monosodic se dizolvă în 60-70 cm^3 apă distilată, apoi volumul se aduce cu H_2O la 100 cm^3, iar pH –ul la 7,8.

2. Sol. de cofeină, 1,0 g/l.
3. Sol. de arginină, 0,1 mol/l.
4. Sol. de acid adenozimonofosforic ciclic, 0,1 mmol/l.

Pentru a obţine rezultate corecte este suficient de a se folosi de două din aceste soluţii.

Tehnica de lucru. Sperma se diluează cu una din aceste soluţii: cu sol.1 - în proporţie de 9:1, iar cu soluţiile 2,3,4 - în proporţia de 1:9. Amestecul obţinut se introduce în termostat la 37 °C pe 60 minute. După incubaţie se numără şi se calculează procentul spermatozoizilor mobili.

Aprecierea rezultatelor. În norma într-un cm^3 de ejaculat se conţin nu mai puţin de 60% de spermatozoizi activi mobili.

5.1.8. Determinarea numărului de spermatozoizi în ejaculat

Principiu. Spermatozoizii imobilizaţi se numără în camera Goreaev.

Reactivi:

1. Soluţia nr.1 pentru imobilizarea spermatozoizilor: 1,0 cm^3 formalină, apă distilată până la 100 cm^3;
2. Soluţia nr.2 pentru imobilizarea spermatozoizilor: 1,0 cm^3 formalină, 5,0 g carbonat de sodiu, apă distilată până la 100 cm^3.

Utilaj:

- microscop;
- cameră de numărat Goreaev;
- eprubete, pipete Pasteur;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,01$ cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil $0,200 - 1,000 \pm 0,0005$ cm^3;

Tehnica de lucru. Ejaculatul se diluează într-o eprubetă de 20 ori cu una din soluţiile pentru imobilizarea spermatozoizilor indicate mai sus, se amestecă bine şi se umple camera Goreaev. Surplusul de lichid din cameră se înlătură cu hârtie de filtru. Se microscopiează la mărimea x200 sau x 400 şi se numără spermatozoizii în 5 pătrate mari pe diagonală. Se numără numai spermatozoizii la care capul e în interiorul pătratului. Numărul obţinut se înmulţeşte cu 10^6. În rezultat se primeşte numărul spermatozoizilor în 1 cm^3 ejaculat, iar dacă vom înmulţi la volumul total de ejaculat recoltat vom obţine numărul total de spermatozoizi în ejaculat.

Notă:

1. Dacă numărul spermatozoizilor în 1 cm^3 este mai mare de 200.10^6, atunci se recomandă de diluat ejaculatul de 100 ori.
2. Dacă diluţia se face cu soluţie fiziologică încalzită până la 37 °C, atunci în cameră se numără numai spermatozoizii imobili pentru a determina conţinutul lor procentual.
3. Dacă viscozitatea ejaculatului este mai mare decât norma ori în ejaculat se conţine o cantitate considerabilă de mucus, atunci pentru diluare se foloseşte soluţia Nr.2 pentru imobilizarea spermatozoizilor.

5.1.9. Cercetarea elementelor celulare în preparate colorate la microscop

Reactivi:

1. Soluţie A: 8,0 g de hematoxilină se dizolvă la incalzire (50-60 °C) în 400 cm^3 de alcool etilic absolut şi apoi se filtrează.
2. Carbonat de potasiu sau alaunul de aluminat de amoniu.
3. Soluţie B: 8,0 g de carbonat de potasiu sau alauni se dizolvă la incalzire în 400 cm^3 H_20 distilată.
4. Glicerină.
5. Acid acetic glacial.
6. Soluţie de hematoxilină: soluţiile A şi B se amestecă adăugând 400 cm^3 glicerină şi 40,0 cm^3 acid acetic. Se amestecă minuţios şi se lasă pe 6 săptămâni într-un loc ferit de lumină. În caz dacă este nevoie de folosit această soluţie imediat după pregătire la ea se adaugă 0,4 g permanganat de potasiu dizolvat în 10,0 cm^3 H_20 încalzită până la 30-35°C.
7. Sol. eozină K 10,0 g/l.
8. Soluţie pentru coloraţia May-Grunwald.

9. Soluție pentru colorația Giemza-Romanovski.

10. Soluție de lucru pentru colorația frotiurilor Giemza-Romanovski. Se pregătește ex tempore reeşind din proporția de 1-2 picături soluție Giemza-Romanovski la 1,0 cm^3 apă distilată.

11. Ulei de imersie.

Utilaj:

Microscop, stativ pentru uscarea frotiurilor, stativ pentru colorarea preparatelor, contor pentru numărarea leucocitelor, însă cu denumirea claviaturii modificată.

Tehnica de lucru. Colorarea frotiurilor:

1. Colorarea cu hematoxilină-eozină.

Frotiul uscat se introduce în soluție de hematoxilină pe 2-3 minute, apoi excesul de colorant se înlătură sub apă curgătoare 2-3 minute, după aceasta frotiul devine colorat în albastru. Apoi frotiul se acoperă cu soluție de eozină pe 1-2 minute. Se clăteste sub apă curgătoare şi se usucă.

2. Colorarea după Pappenheim.

Pe frotiu se picură soluție May-Grunwald pe 3 minute. Apoi preparatul se clăteşte cu apă şi iar se acoperă cu soluția de lucru Giemza-Romanovski pregătită *ex tempore* şi se lasă pe 5 minute. În continuare se clăteşte cu apă, se usucă şi se microscopiază.

Numărarea se produce cu ajutorul sistemei de imersie şi contorului de numărat leucocite. În frotiul colorat se număra nu mai puțin de 200 de spermatozoizi şi se calculeayă în procente numărul spermatozoizilor normali şi a formelor patologice.

Aprecierea rezultatelor. Formele imature ale spermatozoizilor au resturi de citoplasmă ("guleraş" sau "camaşă") în jurul capului şi gâtului. Ei apar în caz de raporturi sexuale frecvente şi nu sunt capabili de fecundare. Formele îmbătrânite de spermatozoizi (hipercromia, acromia, vacuolizarea capului) se întâlnesc în caz de abstinență îndelungată sexuală şi de-asemenea nu sunt capabili de fecundare.

Din formele patologice fac parte spermatozoizii cu capetele deformate (macro-, micro-, capete conice, în formă de plisc, cu 2 capete şi un singur gât şi o coadă, fără gât cu câteva cozi, fără coadă etc.)

Din cei 20 % de spermatizoizi cu forme patologice întâlniți în ejaculatul normal, 10-15 % revin spermatozoizilor cu patologii ale capului, 3-5% - corpului, 2-5% - cozilor. În caz de sterilitate de tip secretor se depistează spermatozoizi cu patologii ale capului şi corpului. Patologia cozii de obicei de natură excretore apare la trecerea spermatozoizilor prin căile spermatice.

În preparatele colorate se întâlnesc celule solitare a spermatogenezei care se află în diferite stadii de dezvoltare sau maturizare. Aceasta este foarte important pentru diagnosticul diferențial al aspermiei şi azoospermiei. Intr-o spermogramă normală celulele spermatogenezei alcătuesc nu mai mult de 2% din numărul total de spermatozoizi maturi. În caz de sterilitate de tip secretor acest procent creşte considerabil.

Spermatocitele de ordinul I sunt celule mari cu citoplasma bazofilă, cu nucleul mare bine pronunțat. În unele cazuri după forma nucleului se poate de apreciat stadiile mitozei.

Spermatocitele de ordinul II în ejaculat practic nu pot fi identificați din lipsa particularităților morfologice evidente în comparație cu spermatidele, care întră în stadia de spermiogeneză. Procentul de bază de celule a spermatogenezei în ejaculat îl constituie spermatidele mature şi tinere. Aceste celule după mărimi sunt egale sau puțin mai mici decît spermatocitele de ordinul II cu citoplasma slab bazofila şi nucleul bine conturat de culoare întunecată. În dependență de stadia spermatogenezei nucleul poate fi deplasat mai mult sau mai putin spre periferia celulei.

În ejaculatul normal spermatozoizii nemodificați morfologic constituie 80-85%. Ejaculatul în care ar lipsi complet forme patologice a spermatozoizilor practic nu există, deoarece în embriogeneză se petrec procese permanente de naştere şi peire a celulelor.

Notă. Timpul de colorare a frotiurilor trebuie experimentat.

5.1.10. Cercetarea spermei la microscopul cu contrast de fază

Ejaculatul se diluează în raportul 1:20 cu ser fiziologic, în care se adaugă soluție de rivanol 10,0 g/l sau fenol (5 cm^3 la 1000 cm^3 ser fiziologic) pentru micşorarea mobilității spermatozoizilor. În continuare spermograma se calculează ca şi în metoda descrisă în p. 1.4.

5.1.11. Cercetarea spermei la microscopul fluorescent

Pe sticluța portobiect se aplică o picătură de ejaculat și o picătură de oranj de acridină 1:20000. Picăturile se amestecă și se acoperă cu lamela. La microscopiere se folosește ocularul x 7 și obiectivul x 40. Spermatozoizii viabili au o fluorescență verde, cei neviabili - oranj. Morfologia spermatozoizilor normali și a celor cu modificări patologice poate fi ușor distinsă.

Spermatograma se calculează în mod analogic cu metoda descrisă în p..1.4.

5.1.12. Analiza fracționată a ejaculatului

Se efectuează cu scop de diagnostic diferențial a proceselor inflamatorii al glandelor sistemei reproductive masculine.

Ejacularea la om are mai multe stadii:

1. Preejaculatoare - se petrece eliminarea conținutului glandelor Cowperi parauretrale și această primă fracție de ejaculare conține sucul prostatic și spermatozoizi din ampula canalului spermal.

2. A doua fracție de ejaculare conține spermatozoizi din canalul spermal și partea caudală a epididimusului și amestecul secretului prostatic și veziculelor seminale.

3. A treia fracție - practic nu conține spermatozoizi dar conține secretul veziculelor seminale.

Pacientului i se propune de a colecta sperma în 3 vase diferite sau într-un vas dreptunghiular despărțit în cîteva secții.

Tehnica de lucru. În fiecare din fracțiile obținute se numără spermatozoizii într-un 1 cm^3 material precum și procentul spermatozoizilor mobili "viabili" și "neviabili". Apoi se determină în fiecare fracție concentrația de acid citric, fructoza și activitatea fosfatazei acide prostatice (vezi metodele 1.1.15, 1.1.16 și 1.1.19) care sunt marcheri specifici ce caracterizează funcția prostatei și a veziculelor seminale.

În caz de hemospermie sau piospermie se numără eritrocitele și leucocitele în 1 cm^3 material și se confruntă cu datele analizelor biochimice.

Colectarea fracționată a ejaculatului permite de a determina cu o mare precizie focarul de unde apar leucocitele sau eritrocitele în ejaculat și de a prescrie un tratament corect orientat.

Notă. Examenul microscopic a ejaculatului permite de a identifica următoarele stări patologice:

1. Aspermie - lipsa spermatozoizilor și a celulelor spermatogenezei în ejaculat.

2. Azoospermie - lipsa spermatozoizilor când sunt prezente celulele spermatogenezei în ejaculat.

3. Astenospermie se caracterizează printr-un număr normal de spermatozoizi însă procentul mobilității lor este scăzut.

4. Oligoastenospermia - numărul spermatozoizilor este micșorat, procentul spermatozoizilor mobili deasemenea este scăzut.

5. Necrospermie - stare în care toți spermatozoizii sunt imobili și după "reanimare" ei rămân tot imobili.

5.1.13. Identificarea fructozei prin reacția cu rezorcină

Principiu. Fructoza în mediul puternic acid se trancformă în hidroximetilfurfurfurol care formeaza cu rezorcina un compus de culoare roșie-aprinsă.

Reactivi:

1. Soluție de rezorcină în alcool etilic 96^0, 1 g/l: se i-a 1,0 g de rezorcină și se dizolvă în 50-60 cm^3 alcool etilic, apoi tot cu alcool etilic se aduce până la 100 cm^3.

2. Sol. de acid clorhidric, 300 g/l: la 17 cm^3 H_2O distilată se adaugă 83 cm^3 HCl concentrat. Se toarnă acidul în apă !!!

Utilaj:

- eprubete 10,0x1,0;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- cilindri sau menzure gradate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,01 cm^3;

- pipetă dozator cu volum variabil 0,200 - 1,000 ± 0,005 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- bac de apă.

Tehnica de lucru. La 0,1 ejaculat se adaugă 4-5 cm³ soluție HCl 300 g/l și câteva picături de rezorcină, se amestecă minuțios apoi se introduce în baia de apă clocotită pe 5 minute.

Aprecierea rezultatelor. În prezența fructozei apare o culoare zmeurie sau roșie-aprinsă. În lipsa fructozei apare o culoare slab roz sau colorarea nu are loc.

5.1.14. Determinarea cantitativă a fructozei prin reacția cu rezorcină

Principiu. Același ca și în metoda precedentă.

Reactivi: Soluție de rezorcină în alcool etilic, 1 g/l.

2. Sol. HCl, 300 g/l.

3. Sol. de acid tricloracetic,100 g/l: 167g sol. de acid tricloracetic 60% se dizolvă în 500-600 cm³ apă, după dizolvare se aduce volumul până la 1L.

4. Fructoză (p.p.a.).

5. Soluție etalon stoc de fructoză, 0,05 mol/l: 0,0900 g de fructoză se dizolvă în 10 cm3 apă distilată. Soluția e stabilă la +4 °C.

Utilaj:
- fotocolorimetru cu lungimea de undă 530 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100,0 ± 0,01 cm³, 1000,0 ± 0,05 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,01 cm³;
- pipetă dozator cu volum variabil 0,200 - 1,000 ± 0,005 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- bae de apă sau termostat;
- eprubete de centrifugare.

Tehnică: La 0,1 cm³ ejaculat sau spermatoplasmă se adaugă 0,4 cm³ 10 g/l de acid tricloracetic, se amestecă minuțios și după 10 minute se centrifughează la 3000 r/min timp de 10 minute. Apoi se măsoară 0,1 cm³ de supernatant, se adaugă 2,5 cm³ sol. HCl 300 g/l și 0,25 cm³ soluție rezorcină 1 g/l în alcool etilic, se amestecă bine și se introduce în baia de apa la 80-90 °C pe 8 minute. Probele se răcesc și se măsoară extincția la 530 nm (filtru verde) în cuve de 1 cm. Proba martor se pregătește ca și proba de examinat, dar în loc de ejaculat se adaugă 0,1 cm³ soluție de acid tricloracetic100 g/l. Culoarea primită este stabilă timp de 2-3 ore.

Calculul se efectuează după curba de etalonare.

Construirea curbei de etalonare. Din soluția standard stoc de fructoză se pregătesc un șir de diluții (tabel 5.1)

Tabel 5.1

Nr. d/o	Sol. stoc de fructoză	Apă distilată	Concentrația de fructoză mmol/l
1.	0,1	0,9	5,0
2.	0,2	0,8	10,0
3.	0,4	0,6	20,0
4.	0,6	0,4	30,0
5.	0,8	0,2	40,0
6.	1,0	-	50,0

Din fiecare diluție se ia câte 0,1 cm^3 soluție și se prelucrează ca și proba de examinat. După extințiile primite se construește curba etalon.

Calculele se pot face după formulă în limitele funcției liniare a curnei de etalonare , sau după formula:

$$C = \frac{Epr \cdot Cst}{Est}, \text{ unde:}$$

C - concentrația fructozei (mmol/l);
Epr- extinția probei de examinare;
Est- extinția probei standard.
Cst- concentrația fructozei în proba standard.
Valori normale: 10,0-60,0 mmol/l.

5.1.15. Determinarea cantitativă a acidului citric

Principiu: În prezența anhidridei acetice acidul citric formează numeroase lactone, apariția cărora se intensifică în prezența piridinei la încălzire. Compușii formați sunt de culoare galbenă, intensitatea cărora este direct proporțională cu concentrația acidului citric.

Reactivi: 1. Anhidridă acetică.
2. Piridină.
3. Sol. acid tricloracetic 100 g/l.
4. Acid citric (p.ch.).
5. Sol. etalon stoc de acid citric, 10 mmol/l: 21,0 mg de acid citric se dizolvă în 10 cm^3 apă distilată. Soluția este stabilă la + 4 °C.

Utilaj:
- fotocolorimetru cu lungimea de undă 410 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100,0 ± 0,01 cm^3, 1000,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,01 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil 0,200 - 1,000 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- bae de apă sau termostat;
- eprubete de centrifugare.

Tehnică: Determinarea acidului citric se efectuează după schema:

Se pipetează în eprubete de centrifugare:	Proba de examinat	Proba standard	Proba martor
1. Sol.acid tricloracetic	0,4	0,4	0,4
2.Ejaculat	0,1	-	-
3. Sol.standard acid citric	-	0,1	-
Se agită bine, se lasă pe 10 min, apoi se centrifughează la 3000 r/min (500 g) timp de 10 min.			
4. Supernatant	0,1	0,1	0,1
5. Anhidridă acetică	2,5	2,5	2,5
Se agită bine, se introduce în termostat la 60 °C timp de 10 min.			
6. Piridină	0,25	0,25	0,25
Probele se agită bine și se incubează la 60 °C - 15 minute. Apoi se răcesc, se măsoară extincția probei de examinat și standard contra probei martor în cuve de 1 cm la 410 nm.			

Calculele se efectuează după formula:

$$C = \frac{Epr \cdot Cst}{Est}, \text{ unde}$$

C - concentraţia acidului citric în mmol/l;
Epr - extincţia probei de examinat;
Cst - concentraţia probei etalon;
Est - extincţia soluţiei etalon (10 mmol/l).
Valori normale: mai mult de 20 mmol/l.
Notă: În timpul incubaţiei devierea temperaturii de 60 °C nu trebuie să depăşească limita 1 °C.

5.1.16. Determinarea acidului ascorbinic prin metoda de titrare

Reactivi: Toţi reactivii se pregătesc pe apă bidistilată.

1. Sol. de acid metafosforic 50 g/l: 5,0 g de acid metafosforic se dizolvă în 50-60 cm^3 apă distilată şi după dizolvare se aduce până la 100 cm^3.

2. Sol. de 2,6-diclorfenolindofenolat de sodiu (2,6-DCPIP), 0,001 N: 0,2 g de 2,6-DCPIP se dizolvă în 600 cm^3 H_2O şi se agită energic, apoi soluţia se lasă pe 8-10 ore la temperatura camerei. Se filtrează şi volumul se aduce până la 1l. Soluţia este stabilă la temperatura camerei la păstrarea ei în veselă din sticlă brună nu mai mult de 7 zile. Deoarece soluţia pregătită nu coincide cu concentraţia de 0,001 N şi titrul ei se schimbă cu timpul este nevoie de a determina coeficientul de corecţie folosind soluţia de sulfat de amoniu-fier (sare Moor) 0,001 N. Titrul soluţiei de sare Moor se determină la rândul ei o dată în 3-4 săptămâni cu soluţia de $KMnO_4$ 0,001 N care se pregăteşte din soluţie standard titru nominalizată.

Utilaj:
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100,0 ± 0,01 cm^3, 1000,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,01 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil 0,200 - 1,000 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- bae de apă sau termostat;
- eprubete de centrifugare;
- microbiuretă de 2 cm^3.

Tehnică: La 0,4 cm^3 ejaculat se adaugă 0,4 cm^3 apă bidistilată şi 0,8 cm^3 soluţie acid metafosforic 50 g/l, se amestecă bine şi se centrifughează la 3000 r/min timp de 10 minute. În continuarea, 0,1 cm^3 supernatant se transferă într-o eprubetă şi se titrează cu soluţie 2,6-DCPIP de 0,001 N (mol/l) până la apariţia culorii roz stabile. Paralel se prelucrează proba martor: la un volum de soluţie de acid metafosforic 50 g/l se adaugă un volum de apă bidistilată (raportul de 1:1) şi se titrează cu soluţie 2,6-DCPIP 0,001 N.

Calculele se efectuează după formula:

$$C = \frac{(A-B)\cdot T\cdot 0{,}088\cdot 4\cdot 57\cdot 100}{0{,}1},$$ unde

C - concentraţia acidului ascorbinic în µmol/l;
A - cantitatea de 2,6-DCPIP celtuită la titrarea probei;
B - cantitatea de 2,6-DCPIP celtuită la titrarea martorului;
T - coeficientul de corecţie a titrului soluţiei de 2,6-DCPIP;
0,088 - coeficientul de transformare: 1 cm^3 0,001 N 2,6-DCPIP corespunde la 0,088 mg acid ascorbinic;
4 - diluţia ejaculatului;
57 - coeficientul de transformare din mg/100 cm^3 în µmol/l;
0,1 - volumul ejaculatului diluat;
100 - coeficientul de transformare la 100 cm^3.
Valori normale: 148-200 µmol/l.
Notă: Deoarece acidul ascorbic se oxidează uşor determinarea lui se va efectua nu mai tirziu de 2 ore după recoltarea ejaculatului.

5.1.17. Determinarea proteinelor prin metoda biuretică

Determinarea cantitativă a proteinelor în ejaculat se efectuează după metoda standardizată biuretică, numai că în loc de ser în cazul dat se ia spermoplasma (în aceleaşi cantităţi ca şi serul sanguin).

5.1.18. Determinarea activităţii fosfatazei acide prostatice

Principiu. Fosfataza acidă hidrolizează p-nitrofenilfosfatul în mediu acid cu formarea p-nitrofenolului, care în mediu bazic dă o culoare galbenă. Cantitatea de p-nitrofenol eliberat este direct proporţională cu activitatea enzimei. Activitatea fosfatazei acide prostatice se inhibează selectiv cu L-tartrat.

Se determină în paralel activitatea fosfatazei acide totale în absenţa tartratului şi activitatea fosfatazei neprostatice în prezenţa tartratului. Diferenţa dintre fosfataza acidă totală şi fosfataza neprostatică, reprezintă activitatea fosfatazei prostatice.

Reactivi: 1. Acid citric (chimic pur);

2. Sol. de NaOH, 20 μmol/l, 1 mol/l, 50 mmol/l;

3. Soluţie tampon-citrat, 0,05 M, pH 4,8: 21,0 g de acid citric se dizolvă în 188,0 cm^3 1 mol/l soluţie de NaOH, se stabileşte pH-ul 4,8 şi se aduce volumul până la 500 cm^3. Soluţia este stabilă la +4 °C.

4. Acid tartric (chimic pur);

5. Soluţie de inhibitor: 15,0 g de acid tartric se dizolvă în 70,0 cm^3 H_2O într-un balon cotat cu capacitatea de 100 cm^3, se adaugă 18,5 cm^3 10 mol/l sol. de NaOH, se stabileşte pH-ul 4,8 şi apoi se adaugă apa până la semn. Soluţia este stabilă la +4 °C.

6. p-Nitrofenilfosfat de sodiu, liber de p - nitrofenol;

7. Soluţie substrat-tampon: 40,0 mg p-nitrofenilfosfat de sodiu se dizolvă în 10,0 cm^3 soluţie tampon-citrat, 0,05 M, pH 4,8. Soluţia este stabilă la +4 °C timp de 10-15 zile.

8. p-Nitrofenol (chimic pur).

9. Soluţie standard (etalon) de p-nitrofenol: 13,9 mg p-nitrofenol se transferă într-un balon cotat cu volumul de 100 cm^3 şi se adaugă soluţie NaOH 50 mmol/l până la semn. Într-un cm^3 de această soluţie se conţine 1 imol de p-nitrofenol.

Utilaj:

- fotocolorimetru cu lungimea de undă 410 ± 10 nm;
- cântar analitic cu precizia de 0,0002g;
- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100,0 ± 0,01 cm^3, 1000,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,01 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil 0,200 - 1,000 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- bae de apă sau termostat;
- eprubete de centrifugare.

Tehnică: Determinarea se efectuează după schema:

Se pipetează în eprubete:	Proba de examenat (activitatea totală a fosf.acide)	Proba de examenat cu inhibitor (activitatea fosf.acide neprostatice)	Proba martor
1. Sol. substrat-tampon	1,0 cm^3	1,0 cm^3	1,0 cm^3
2. Sol.de inhibitor	-	0,02 cm^3	-
Se încălzeşte 5 min la 37 °C			
3. Ejaculat diluat de 1000 ori cu ser fiziologic	0,2 cm^3	0,2 cm^3	-

4. Sol. de NaOH 50 mmol/l	5,0 cm^3	5,0 cm^3	5,0 cm^3
5. Ejaculat diluat de 1000 ori cu ser fiziologic	-	-	0,2 cm^3
Se amestecă bine şi se măsoară extincţia probei de examinat (E_1) şi probei de examinat cu inhibitor (E_2) faţă de martor la 405 nm în cuve de 1 cm.			

Calculele se efectuează după următoarea formulă:

$$A = \frac{c \cdot 5 \cdot 1000}{30}, \text{ unde}$$

A - activitatea fosfatazei acide prostatice;
c - concentraţia p-nitrofenolului ce corespunde semnificaţiei $\Delta E = (E_1 - E_2)$ pe curba de etalonare;
5 - coeficientul de transformare în (cm^3);
1000 - diluţia ejaculatului;
30- timpul de incubare în minute.

Construirea graficului de etalonare: în 5 eprubete se măsoară respectiv 1; 2; 3; 4; 5 cm^3 soluţie standard stoc de p-nitrofenol şi se aduce până la volumul de 6,2 cm^3 cu 50 mmol/l soluţie NaOH. Se măsoară extincţiile contra H_2O distilată (sau 50 mmol/l soluţie NaOH) la 405 nm în cuve de 1 cm. Se construeşte curba de etalonare, pe axa absciselor înscriindu-se concentraţiile p-nitrofenolului (mmol/l), iar pe axa ordonatelor - extincţiile obţinute.

În ejaculatul normal, activitatea fosfatazei acide prostatice este nu mai mică de 3,3 ME/cm^3 sau mkmol/min/l.

Notă: Pentru determinarea activitatii fosfatazei acide prostatice se poate folosi setul de reactivi produşi de diferite firme. Determinarea se face după instrucţie, dar în loc de ser sanguin se ia ejaculat, diluat de 1000 ori cu ser fiziologic.

5.1.19. Testul postcoital (TPC)

Principiu. După numărul spermatozoizilor mobili ce se află în mucusul cervical al femei, primit după coitus se identifică dereglările pătrunderii spermatozoizilor în canalul cervical.

Utilaj: Microscop, termostat, lame, lamele, pipete Pasteur.

Tehnică: După 6-10 ore după actul sexual se ia o picătură de mucus cervical şi se transferă pe sticluţa portobiect încălzită în prealabil până la 25 °C, se acoperă cu lamela, pe marginile lamelei se toarnă parafină topită. La mărimea x 200 în 5 câmpuri de vedere se numără spermatozoizi mobili, imobili şi oscilanţi (fenomenul de "balansare") în procente faţă de numărul total.

Aprecierea rezultatelor: 4 - excelent, dacă se va găsi mai mult de 15 spermatozoizi mobili activi. În aşa caz sperma poate să nu se examineze; 3 - bun, dacă în mucusul endocervical se depistează mai mult de 10 spermatozoizi cu mobilitate ascendentă, iar procentul spermatozoizilor cu mobilitate oscilatorie este mai mare de 25%; 2 - satisfăcător, dacă numărul de spermatozoizi activi mobili este 6-10, iar cei cu mobilitatea oscilatorie sunt mai puţin de 25%; 1 - incert, dacă numărul spermatozoizilor activi este mai mic de 5, iar fenomenul de "balansare" este mai mare de 25%. În acest caz este nevoie de a repeta testul postcoital. Dar la primirea repetată a rezultatelor incerte se cercetează serul sanguin a cuplului conjugal şi spermoplasma la prezenţa anticorpilor spermoaglutinari şi spermoimobilizatori; 0 - negativ, dacă spermatozoizii lipsesc.

Notă: Cel mai potrivit timp de efectuare a TPC sunt zilele de ovulaţie la femei.

5.1.20. Cercetarea mucusului cervical la receptivitatea şi capacitatea de pătrundere a spermatozoizilor

Tehnică: În ziua ovulaţiei, care se determină prin metode citohormonale sau alte metode, de la femeia examinată se recoltează mucusul cervical şi se transferă pe o lamă. Alături se pune o picătură de spermă proaspat eliminată (nu mai mult de 45 minute după ejaculare) a soţului acesteea. Ambele picături se

acoperă cu o lamela în aşa fel ca picăturile să se unească dar să nu se amestece. Marginea lamelelor se acoperă cu un strat de parafină topită. Preparatul se pune în termostat la 37 °C pe 3 ore. Periodic (peste 15, 30, 60, 120 şi 180 min) preparatul se microscopiază.

Aprecierea rezultatelor: În preparat se pot depista următoarele fenomene:

- Spermatozoizii pătrund adânc prin zona de unire a picăturilor în interiorul picăturii cu mucus şi majoritatea din ei îşi păstrează mobilitatea timp de 3 ore. La cuplurile de familie sănătoase secretul cervical are o receptivitate normală faţă de spermatozoizi, iar spermatozoizii se caracterizează printr-o capacitate normală de pătrundere.

- Spermatozoizii pătrund uşor în picătura cu mucus dar repede iţi pierd mobilitatea. În acest caz receptivitatea mucusului faţă de spermatozoizi este scăzută. Această dereglare poate fi cauzată şi de capacitatea slabă de pătrundere a spermatozoizilor.

- Spermatozoizii nu pătrund în mucusul cervical. În cazul dat mucusul este nereceptiv faţă de spermatozoizi. Pentru identificarea cauzei se petrec diferite teste incrucisate cu ejaculat de control (normal) şi mucus cervical de control (normal).

5.1.21. Testul încrucişat cu ejaculat de control

Tehnică: În ziua ovulaţiei se colectează mucus cervical de la femeia examinată. Drept ejaculat de control (normal) serveşte ejaculatul unui bărbat sănătos, care are copii şi la care spermatozoizii au o capacitate de pătrundere înaltă. Preparatul se pregăteşte şi se cercetează conform metodei descrise în p. 5.1.21.

Pătrunderea liberă a spermatozoizilor din ejaculatul de control în mucusul cervical al femeei examinate arată că mucusul dat are o capacitate de receptivitate normală numai fata de acest ejaculat, dar nu faţă de ejaculatul soţului sau. Însă dacă spermatozoizii donatorului nu pătrund, atunci mucusul şi serul sanguin al cuplului congugal (soţilor) se controlează la testele de spermoimobilizare şi spermoaglutinare. Capacitatea de pătrundere a spermatozoizilor soţului se controlează prin metoda incrucişată cu mucus cervical de control (normal).

5.1.22. Testul încrucişat cu mucus cervical de control

Tehnică: De la o femee sănătoasă cu capacitatea de receptivitate normală, se ia mucus cervical şi se cercetează cu ejaculatul pacientului ce se examinează. Dacă spermatozoizii nu pătrund în mucusul de control, atunci cauza sterilităţii este incapacitatea de pătrundere a spermatozoizilor pacientului. Dacă spermatozoizii pătrund, atunci sotia pacientului are nevoie de cercetarea mucusului cervical la prezenţa anticorpilor.

5.1.23. Testul de microaglutinare Friberg (TF)

Principiu. În prezenţa anticorpilor faţă de spermatozoizi în materialul de analizat (ser sanguin, spermoplasmă, mucus cervical) se petrece aglutinarea spermatozoizilor donatorului care în reacţia dată îndeplineşte rolul de antigen.

Reagenţi: 1. Fosfat biacid de potasiu (KH_2PO_4).

2. Fosfat monoacid de sodiu (Na_2HPO_4).

3. Clorura de sodiu (NaCl)

4. Soluţie tampon fosfat-salin (pH 7,2-7,4): 0,40 g KH_2PO_4, 12,17 g Na_2HPO_4, 8,50 g NaCl se dizolvă în 700-800 cm^3 apă distilată, se stabileşte pH-ul 7,2-7,4 şi volumul soluţiei se aduce până la 1 l.

5. Ejaculatul donatorului. Se folosesşte sperma normală a unui om sănătos recoltată nemijlocit inainte de examinare. Se determină în ea numărul spermatozoizilor şi se diluează cu soluţie tampon fosfat până la concentraţia spermatozoizilor de $40 \cdot 10^6/cm^3$.

Utilaj: Planşete pentru microaglutinare sau eprubete serologice, pipete Pasteur cu capătul anterior alungit.

Material de cercetat. Serul sanguin înainte de examinare se inactivează timp de 30 min la 56 °C. Spermatoplasma şi mucusul cervical se colectează înainte de cercetarea probei şi se foloseşte în reacţie fără prelucrare preliminară.

Tehnica de lucru. Cinci picături de material de examinat nediluat se transferă cu pipeta Pasteur într-o eprubetă serologică sau într-un godeu al planşetei. Apoi se adaugă o picătură de spermă diluată de la

donator. Eprubeta se acoperă cu un dop, iar planşeta - cu capacul, şi se incubează la 18-20 °C până la formarea aglutinatelor, care pot apărea pe parcursul a 4 ore maximal. Peste fiecare 1, 2, 3 şi 4 ore se controlează prezenţa aglutinatelor la microscop la mărimi mici.

Aprecierea rezultatelor: Se efectuează după cantitatea aglutinatelor de spermatozoizi. Lipsa aglutinatelor mărturiseşte că în materialul examinat anticorpi antispermali nu au fost depistaţi. Prezenta aglutinatelor mărturiseşte despre prezenţa anticorpilor antispermali în materialul examinat. În acest caz dat el trebuie cercetat prin metoda cantitativă.

Notă: Pipeta Pasteur sau seringa după fiecare examinare a materualului de cercetat se spală bine de patru ori cu soluţie tampon fosfat.

5.1.24. Testul cantitativ de microaglutinare "Friberg"

Principiu. Acelaşi ca şi în p.5.1.24.

Reagenti: Aceiaşi ca şi în p. 5.1.24.

Utilaj : Planşete sau tuburi (eprubete) serologice.

Material de cercetat: Acelaşi ca şi în p. 5.1.24.

Tehnica de lucru. Se prepară două serii de diluţii a materialului de cercetat cu soluţie tampon de la 1:4 până la 1:256. Pentru aceasta intr-un godeu al planşetei sau într-un tub se toarnă 0,3 cm^3 soluţie tampon, iar în celelalte câte 0,2 cm^3 de aceeaşi soluţie. În primul godeu sau tub se adaugă 0,1 cm^3 de material de cercetat, se agită bine şi se transferă 0,2 cm^3 de amestec în godeul (tubul) următor, se agită şi iarăşi se transferă 0,2 cm^3 în următoarele godeuri (tuburi) şi aşa mai departe până când obţinem diluţia 1:256. Din ultimul godeu (tub) 0,2 cm^3 de amestec se aruncă. În fiecare diluţie apoi se adaugă câte o picătură (0,04 cm^3) de spermă diluată de donator. Se acoperă probele cu capace sau dopuri şi se incubează la fel ca şi în metoda 5.1.24. Peste 4 ore din fiecare probă se ia câte o picătură şi se transferă pe sticla portobiect. Se acoperă cu lamela şi se microscopiază numărând aglutinatele prezente într-un câmp de vedere al microscopului.

Aprecierea rezultatelor. Drept titru al anticorpilor aglutinizanţi se ia ultima diluţie în care au fost depistate 3 sau mai multe aglutinate într-un câmp de vedere. Prezenta aglutinatelor in titru 1:4 sau 1:8 poate indica la o reacţie nespecifică şi numai începând cu titrul 1:16 aglutinaţia poate fi considerată specifică, ceea ce mărturiseşte despre mecanismul imun al sterilităţii.

Notă: Vezi metodele 5.1.24 şi 5.1.25. În lipsa capacelor sau dopurilor amestecul se acoperă cu câteva picături de ulei de vazelină.

5.1.25. Testul de imobilizare a spermatozoizilor Isodjim (TSI)

Principiu. Prezenţa anticorpilor spermoimobilizatori in materialul de cercetat se identifică după micsorarea mobilităţii spermatozoizilor donatorului.

Reagenţi:

1.Soluţie tampon fosfat, acelaşi ca şi în p. 1.1.24.

2.Complement praf uscat din serul cobailor. Se pregăteşte conform instrucţiei la partida dată a preparatului.

3. "Ser imun uman". Serul donatorului cu anticorpi spermoimobilizatori, care micsoreaza mai mult de 90% mobilitatea spermatozoizilor după incubare la 37 °C timp de o oră. Înainte de a fi folosit în reacţie serul se inactivează la 56 °C timp de 30 min.

4. "Ser normal uman" - serul sanguin de femee care a născut şi care nu micşorează mobilitatea spermatozoizilor donatorului. Înainte de a fi folosit serul se inactivează la 56 °C - 30 min.

5. Ejaculatul donatorului se recoltează nemijlocit înainte de examinare. El trebuie să conţină nu mai puţin de 70% spermatozoizi cu mobilitate activă. Această cifră se foloseşte la calcule. La analiză se foloseşte ejaculatul cu concentraţia spermatozoizilor de 40 mln/cm^3. Pentru diluţie se foloseşte soluţia tampon-fosfat salin.

6. Soluţie de NaCl, 154 mmol/l (0,85% - ser fiziologic).

Material de cercetat. Ser sanguin inactivat (56 °C - 30 min), ejaculat, mucus cervical.

Utilaj:

- balanţă tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;

- baloane cotate cu volumul 100,0 ± 0,01 cm^3, 1000,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,01 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil 0,200 - 1,000 ± 0,005 cm^3;
- pipetă dozator cu volum variabil 0,005 - 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;
- baie de apă sau termostat;
- eprubete de centrifugare;
- cameră de numărat Goreaev.

Tehnica de lucru. Se procedează după indicațiile din schema de mai jos:

În eprubetă se toarnă (cm^3)	Proba de examinat (2 tuburi)	Controlul complementului	Controlul mobilității spermatozoizilor	Controlul imobilizării
1. Ser fiziologic	-	0,5	-	-
2. Ser uman normal	-	-	0,5	-
3. Ser uman imun	-	-	-	0,5
4. Complement	0,1	0,1	0,1	0,1
5. Material de cercetat	0,5	-	-	-
6. Ejaculat diluat al donatorului	0,05	0,05	0,05	0,05

Eprubetele se incubează la 37 °C timp de o oră. Se agită minuțios. Apoi din fiecare tub se aplică câte o picătură pe o lamă, se acoperă cu lamela și se numără spermatozoizii mobili la 100 de celule (în %). Numărătoarea se efectuează la mărimea x 400.

Aprecierea rezultatelor. Mobilitatea spermatozoizilor în proba "Controlul complementului" și "Controlul mobilității spermatozoizilor" nu trebuie să fie mai mică ca cea inițială în ejaculatul donatorului. În proba "Controlul imobilității" mobilitatea trebuie să fie micșorată nu mai puțin de 90%. Respectând aceste cerințe se apreciază rezultatul probei de cercetat, folosind pentru aceasta următoarea formulă:

$X = \frac{K}{0}$, unde:

K - procentul spermatozoizilor mobili în ejaculatul donatorului;
0 - procentul spermatozoizilor mobili în materialul de cercetat;
X - indicele spermoimobilității.

Când X este mai mic de cât 2, mobilitatea spermatozoizilor scade mai mult de 50%. Acest rezultat se consideră negativ, deoarece această micșorare nu este condiționată de prezența anticorpilor antispermali.

Dacă X este mai mare de cât 2 aceasta înseamnî că în proba dată sunt prezenți anticorpii imobilizatori. În acest caz materialul trebuie examinat prin metoda cantitativă.

5.1.26. Testul cantitativ de imobilizare a spermatozoizilor Izodjim

Principil, reagenții și materialul de cercetat sunt aceeași ca și în metoda 5.1.26.

Tehnica de lucru. Se pregătesc 2 serii de dilutii a materialului de cercetat cu soluție tampon-fosfat salin de la 1:4 până la 1:256. Pentru aceasta în primul tub se toarnă 0,75 cm^3 sol. tampon, în toate celelalte - câte 0,5 cm^3 sol.tampon. În primul tub se adaugă 0,25 cm^3 material de cercetat, se amestecă bine și 0,5 cm^3 de amestec se transferă în al doilea tub și așa mai departe până la diluția 1:256. Din ultimul tub 0,5 cm^3 de soluție se aruncă. Apoi în fiecare tub se adaugă câte 0,1 cm^3 de complement și 0,05 cm^3 de ejaculat diluat al donatorului. Se incubează la 37 °C timp de 1 oră. Atent se agită și din fiecare tub se ia câte o picătură de material și se aplică pe sticluța portobiect, se microscopiază și se numără procentul spermatozoizilor mobili. Pentru calcularea rezultatelor se foloseste aceeași formulă ca și în metoda 5.1.26. Se calculează X pentru fiecare diluție.

Diluția în care X este egal cu 2 sau mai mic decât 2 rezultatul se consideră negativ, iar diluțiile următoare unde X este mai mare decât 2 se consideră drept titru al testului de imobilizare a spermatozoizilor.

CAPITOLUL 6

DEPISTAREA GONOCOCILOR ŞI A TRIHOMONADELOR VAGINALE

6.1. Depistarea gonococilor şi a trihomonadelor vaginale în materialul de cercetat, colorat cu albastru de metilen

Principiu. Esenţa metodei constă în depistarea agenţilor patogeni în preparatele colorate cu albastru de metilen.

Reactivi :

1) soluţie apoasă de albastru de metilen 1% : 1g de albastru de metilen se dizolvă în 100 cm^3 de apă distilată, apoi se filtrează printr-un filtru de hârtie;

2) alcool etilic, 96^0.

Utilaj special : microscop cu iluminaţie, ceas de nisip, stative.

Pregătirea preparatelor. Materialul de cercetat se aplică pe lame (sticle portobiect) degrasate sub formă de un strat subţire uniform şi se usucă la aer.

Mersul cercetării. Preparatul se fixează 3 minute în alcool etilic 96^0, se usucă, apoi se aplică soluţia albastru de metilen de 1% pe o minută, după aceasta restul de vopsea se spală minuţios sub apă rece curgătoare din robinet şi se usucă în stative.

Microscopia. Cercetarea materialului se petrece la microscop cu iluminaţie naturală sau artificială, obiectivul 90 cu imersie, ocularul 7 sau 10. Uleiul de imersie folosit este uleiul de cedru. Preparatul are o culoare albastră. Nucleele celulei au o culoare albastră închisă, citoplasma - albastru deschisă de intensitate diferită (până la incoloră). Mucozitatea se colorează în albastru deschisă. Flora bacteriană se colorează în albastru de intensitate diferită. Gonococii sunt de culoare albastru închisă cu contururi pronunţate, sub formă de bob în perechi; se localizază în interiorul celulei, în celulele epiteliale şi în mucozităţi.

Trihomonadele vaginale au forme diferite (rotundă, ovală, poligonală). Se localizează în mucozităţi printre elementele celulare, membrana este conturată clar, nucleul este amplasat excentric, se colorează intens în albastru, citoplasma este fină, în formă de reţea, de culoare albastru deschisă, vacuolele - incolore.

6.2. Depistarea gonococilor şi a trihomonadelor vaginale în materialul de cercetat, colorat cu eozină şi albastru de metilen

Principiu. Esenţa metodei constă în depistarea agenţilor patogeni în preparatele colorate cu eozină şi albastru de metilen (această metodă se recomandă de a o folosi la cercetarea materialului recoltat la copii).

Reactivi :

1) soluţie de eozină de 1% în alcool etilic: 1 g de eozină hidrosolubilă se dizolvă în 37 cm^3 apă distilată, apoi se adaugă la aceasta soluţie 63 cm^3 de alcool etilic 96^0 sau 1 g de eozină solubilă în alcool se dizolvă în 63 cm^3 de alcool etilic, apoi se adaugă 37 cm^3 apă distilată. Soluţia se filtrează.

2) Soluţie apoasă de albastru de metilen de 1%.

Utilaj : microscop cu iluminaţie, ceas de nisip, stativ.

Pregătirea preparatelor. Materialul de cercetat se aplică în strat subţire şi continuu pe suprafaţa unei lame bine degrăsate. Frotiurile astfel preparate se usucă la temperatura camerei.

Mersul colorării. Fără o fixare prealabilă preparatele se scufundă în 1% soluţie de eozină pe 15-20 secunde, se spală cu apă curgătoare din robinet şi se acoperă cu 1% soluţie albastru de metilen pe 1-2 minute, apoi minuţios se spală colorantul rămas sub un jet de apă rece din robinet şi se usucă în stativ la temperatura camerei.

Microscopia. Colorarea materialului se efectuează pentru depistarea eozinofilelor paralel cu gonococii

şi trihomonadele. Preparatul are o culoare albastră.

Nucleul celulelor se colorează în albastru, citoplasma - albastru deschis de intensitate diferită. Citoplasma eozinofilelor are o granulaţie de culoare roz-aprinsă. Mucozităţile au o culoare albastră deschisă. Flora bacteriană se colorează în albastru de intensitate diferită. Gonococii sunt de culoare albastru-închisă, bine conturaţi, în formă de bob în perechi; se localizează intracellular, în mucozităţi şi deasupra celulelor epiteliale.

Trihomonadele vaginale - nucleul situat excentric, în formă ovală, de culoare albastru închisă, citoplasma în formă de reţea de culoare albastră deschisă, vacuolele - incolore, membrana citoplasmei este bine conturată.

6.3. Depistarea gonococilor şi a trihomonadelor vaginale în materialul de cercetat, colorat cu verde de briliant

Principiu. Esenţa metodei constă în determinarea agenţilor patogeni în preparatul colorat cu verde de briliant.

Reactivi :

1) Soluţie apoasă de verde de briliant de 0,5% : 0,5 g de briliant verde se dizolvă în 100 cm^3 de apă distilată clocotită, se filtrează în stare fierbinte prin filtru de hirtie.

2) Alcool etilic de 96°

Utilaj : vezi p.1.1.

Pregătirea preparatelor : vezi p.1.1.

Mersul colorării. Preparatul se fixează 3 minute în alcool etilic de 96°, se usucă, apoi se acoperă cu 0,5% soluţie apoasă de verde de briliant pe 1 minut şi minuţios se spală excesul de colorant cu un get de apă curgătoare din robinet şi se usucă pe un stativ la temperatura camerei.

Microscopierea. Preparatul are o culoare verde. Nucleul celulelor se colorează în verde, citoplasma - în verde deschis. Mucozităţile sunt de o culoare verde. Formele bacteriene se colorează în verde de intensitate diferită. Gonococii sunt de culoare verde închisă, conturaţi bine în formă de bob în perechi, situaţi intracellular, în mucozităţi şi deasupra celulelor epiteliale. Trihomonadele vaginale au forme diferite (ovală, rotundă, poligonală), sunt amplasate între elementele celulare sau în mucus: membrana citoplasmei este conturată clar, nucleul este colorat intens în verde, amplasat excentric, citoplasma se evidenţiază în formă de reţea de culoare verde deschisă, vacuolele incolore.

6.4. Depistarea gonococilor şi a trihomonadelor vaginale în materialul de cercetat cu colorarea după metoda Gram modificată

Principiu. Esenţa metodei constă în particularitatea gonococilor, trihomonadelor vaginale şi altor microorganisme Gram-negative prin decolorare pe parcursul unui timp anumit cu alcool etilic de a ceda colorantul violet şi de a se recolora ulterior într-o culoare oranj-roşie suplimentar.

Reactivi :

1) Soluţie apoasă de cristal de violet 1%: 1 g cristal de violet se dizolvă în 100 cm^3 de apă distilată clocotită, soluţia se filtrează în stare fierbinte prin-un filtru de hârtie.

2) Soluţia apoasă Lugol: 2 g KI se dizolvă în 300 cm^3 de apă distilată, în soluţia obţinută se dizolvă 1 g de iod cristalin pur, se filtrează printr-un filtru de hârtie.

3) 96° alcool etilic.

4) Soluţie apoasă de roşu neutru 1%: 1 g roşu neutru se dizolvă în 100 cm^3 apă distilată şi apoi se filtrează prin filtru de hârtie

Utilaj : vezi p.1.1.

Pregătirea preparatelor : vezi p.1.1.

Mersul colorării. Preparatul se acoperă cu o bandă de hârtie de filtru, apoi se toarnă pe ea soluţie apoasă de cristal violet de 1% pe 1 minută. De urmărit ca între hârtia de filtru şi sticlă să nu fie bule de aer, în caz contrar bulele se înlătură cu un bastonaş sau cu pipeta de sticlă şi se apasă hârtia de filtru muiată în sol.cristal violet. După 1 minut hârtia se înlătură, preparatul se spală cu apă de robinet şi se toarnă soluţia Lugol, care se lasă pe câteva secunde până la înnegrirea frotiului.

După acea restul de soluție Lugol se spală, apoi se procedează la decolorarea preparatului cu alcool etilic de 96°. Decolorarea se petrece sub control vizual, apoi scufundăm preparatul într-un pahar cu apă pentru spălarea alcoolului. Decolorarea preparatului se petrece până când acesta capătă o culoare cenușie-palidă. Atunci preparatul se spală repede sub get de apă curgătoare și se colorează timp de 3 minute cu soluție de 1% de soluție roșu neutru. În continuare preparatul din nou se spală minuțios cu apă curgătoare până când apa ce se prelinge de pe acesta devine incoloră, apoi preparatul se usucă la aer.

Microscopia. Preparatul vopsit corect are o culoare oranj-roșie în straturile subțiri și violet-liliachie în straturile groase. Nucleele elementelor celulare (leucocite, celulele epiteliale) sunt de culoare violetă, partea centrală trebuie să aibă o culoare violetă, iar cea periferică - oranj-roșie ; gonococii repartizați în leucocite și deasupra celulelor epiteliale vor fi de culoare oranj-roșie. Pentru obținerea unei colorații de calitate înaltă este necesar de a urmări atent cum decurge decolorarea preparatului: la decolorarea insuficientă nucleele celulelor au o colorație intensă violetă, gonococii pot să-și păstreze culoarea violetă, pe când în preparatele decolorate peste măsură, stafilococii și streptococii pot căpăta o culoare oranj-roșie și pot fi confundați cu gonococii. Identificarea gonococilor se bazează pe proprietățile lor morfologice, repartizarea și particularitățile față de colorația după Gram. Gonococul este un coc par, avînd forma unui bob de cafea, cocii sunt îndreptați unul către celălalt cu părțile sale concave; înmulțindu-se prin diviziune în diferite planuri, gonococii nu formează lanțuri. În interiorul leucocitelor ei se repartizează în perechi sau în grupe în așa mod, că unii diplococi sunt așezați în raport cu alții sub diferite unghiuri. Repartizarea extracelulară a gonococilor î-și are și ea particularitățile sale deosebite. În multe cazuri gonococii se găsesc deasupra celulelor epiteliale în număr mare în rânduri cu repartizarea diplococilor perpendicular unul față de altul înăuntrul rândului. Frecvența repartizării gonococilor intra- sau extracelular depinde atât de perioada bolii cât și de metoda de recoltare a materialului. La identificarea gonococilor trebuie de luat în considerație toate cele trei proprietăți de bază caracteristice pentru acești germeni.

Rezultatul pozitiv se dă numai la depistarea formelor tipice ale gonococilor.

Trihomonadele vaginale se colorează palid: membrana sub formă de bandă fină înconjoară citoplasma reticulară de culoare oranj-roșie, nucleul-violet sau liliachiu. Flagelii și membrana ondulatoare nu se depistează.

6.5. Depistarea trihomonadelor vaginale în materialul de cercetat în preparatul nativ

Principiu. Agentul patogen se depistează după mișcarea sa printe elementele figurate și microorganisme în preparatul pregătit *ex tempore.*

Reactivi :

1) soluție de NaCl izotonică: 0,9 g NaCl se dizolvă în 100 cm^3 apă distilată.

Utilaj : microscop cu iluminare, lame, lamele, pipete Pasteur.

Prepararea preparatelor. Pe o lamă se aplică o picătură de soluție izotonică caldă de NaCl, care apoi se amestecă cu materialul patologic, eliminat din focarul de infecție. Emulsia obținută se acoperă cu o lamelă și apoi o cercetăm la microscop.

Microscopia. Cercetările se efectuează sub microscopul cu iluminație naturală sau artificială imediat după pregătirea preparatului: obiectivul 40, ocularul 7 sau 10.

Trihomonada vaginală se determină după corpul în formă de pară rotungită sau ovală; ea are dimensiunile puțin mai mari decât un leucocit, și mișcarea bruscă caracteristică membranei undulare și a flagelilor, care se văd foarte bine la microscopul cu fon închis sau condensator cu fază de contrast.

Notă. La examinarea preparatelor native trihomonadele vaginale uneori se confundă cu flagelatele din familia Bodonidelor care pot nimeri în preparat din apă, vesela murdară etc. Spre deosebire de trihomonade, Bodonidele au câte 2 flagele și ele se mișcă foarte repede în linie dreaptă, rectilină. Greșelile pot fi provocate și de prezența în preparat a bacteriilor mobile, care fixându-se de leucocite, produc impresia prezenței unui număr mare de trihomonade mobile.

Deoarece la păstrarea preparatelor mai mult timp la temperatura camerei, trihomonadele î-și pierd mobilitatea, examinarea trebuie efectuată cât mai repede posibil, imediat după recoltarea materialului biologic.

CAPITOLUL 7

CERCETĂRI PARAZITOLOGICE

7.1. Examinarea materiilor fecale

7.1.1. Lucrul cu materiile fecale în laborator

Materiile fecale se colectează în vase de sticlă sau plastic de unică folosință pe care se indică numele, prenumele și patronimicul, vârsta și adresa pacientului. Materiile fecale trebuie să fie aduse în cantități suficiente nu mai puțin de ¼ din pahar, deoarece porțiunile mai mici de excremente se usucă rapid și ouăle de helminți se deformează. În afară de aceasta uneori apare necesitatea de a repeta cercetările și prin alte metode.

Materiile fecale aduse în laborator trebuie cercetate în aceeași zi, iar atunci când aceasta nu este posibil ele trebuie păstrate la rece până dimineața următoare. La efectuarea analizelor vesela trebuie să fie dezinfectată prin fierbere sau expoziție timp de 5 ore în sol. 5% fenol, lizol sau 2% crezol. În caz de necesitate materialul poate fi păstrat câteva zile în prezența conservanților.

La înregistrarea rezultatelor analizelor, denumirea helminților se marchează după nomenclatura contemporană (denumirea în latină).

Toate metodele de diagnostic de laborator al helmintozelor necesită: microscoape optice, lame, lamele.

Examinarea preparatelor se începe cu cercetarea la mărimi mici cu ocularul x10, iar în cazurile problematice (de suspecție) se utilizează mărimile mari ale microscopului (10x40).

Pentru depistarea larvelor de S.stercolis, A.duodenale, N.americanus pot fi utilizate microscoapele stereoscopice binoculare.

În laboratoare este necesar de a urmări starea bună de funcționare a nișelor de ventilație.

7.1.2. Metode de conservare a materiilor fecale

Materiile fecale pentru cercetarea prin metodele indicate mai jos trebuie să fie transportate în laborator proaspăt recoltate (nu mai tîrziu de 24 ore). În caz de necesitate de păstrare îndelungată, și în scopul evitării influenței condițiilor nefavorabile la transportare, care pot condiționa deformarea ouălor de helminți, se recomandă conservarea fecaliilor în soluția Barbagollo sau soluție de detergenți sintetici (remediile pentru spălare de tip „Lotos", „Extra", „Universal" etc.). Raportul dintre fecalii și soluție trebuie să constituie 1:10.

7.1.3. Metoda de sedimentare a materiilor fecale (simplă)

Principiu: În sediment se evidențiază bine ouăle de schistosome care pot fi ușor evidențiate de diferite elemente organice, care se conțin în fecale.

Reagenți: Solvent. Se prepară amestecând sol.50% glicerină cu sol.izotonică de NaCl în proporție 1:1.

Tehnică: Într-un pahar conic cu capacitatea de 200 cm^3 se omogenează 1 g de materii fecale cu 1-2 cm^3 de solvent. Conținutul paharului apoi se diluează până la volumul vasului și se lasă să se limpezească 20-30 min. Supernatantul se înlătură, iar sedimentul se examinează la microscop la mărimi mici la prezența ouălor de helminți. Pentru a obține o concentrație mai mare de ouă de helminți în sediment acesta se diluează din nou cu solvent și apoi se lasă să se limpezească 10 min. Sedimentul din stratul de la fund se recoltează cu pipeta Pasteur și se transferă 2 picături pe o lamă, se acoperă cu lamela și se cercetează la microscop.

7.1.4. Metoda de sedimentare a materiilor fecale după Ritchie

Principiu: Ouăle de schistosome se depistează în sedimentul obținut la centrifugare.

Reagenți: Sol.izotonică de NaCl, 10% formalină, eter sulfuric.

Tehnica de lucru: Într-un vas se amestecă circa 2 g fecale cu 10 cm^3 sol.izotonică de NaCl şi se transferă în eprubete de centrifugat. Eprubetele se astupă cu un dop şi se agită 30 sec. Dopul se înlătură, iar conţinutul eprubetei se centrifughează 2 min la 2000 tur/min. Apoi supernatantul se înlătură, la sediment se adaugă 10 cm^3 sol. 10% formalină, se agită energic şi se lasă să se limpezească 5 min. După aceasta se adaugă 3-5 cm^3 eter sulfuric, se astupă cu un dop şi se agită până la obţinerea unei suspensii omogene, dopul se înlătură şi se centrifughează din nou 2 min. După centrifugare în eprubete se formează 4 straturi: 1) sedimentul la fundul eprubetei ce conţine ouăle de schistosome; 2) stratul de formalină; 3) stratul de detrit (lipide, fibre etc.); 4) stratul de eter.

Mai departe detritul se înlătură împreună cu stratul de eter şi formalină, iar sedimentul din stratul de la fund se transferă pe lame şi se examinează la microscop la mărimi mici.

7.2. Metode generale de cercetare a materialului pentru identificarea protozoarelor.

7.2.1. Identificarea protozoarelor intestinale în fecale prin metoda frotiului nativ şi frotiului cu soluţia Lugol.

Principiu: Suspensia de materii fecale în ser fiziologic permite de a păstra viabilitatea trofozoiţilor de protozoare (amibe, flagelate, ciliate), care au mişcări caracteristice, fapt ce facilitează decelarea şi identificarea elementelor parazitare. Soluţia Lugol colorează membrana chistilor şi detaliile de structură internă, inclusiv şi cea a amidonului în diferite stadii de digestie.

Reactivi :

1. Sol.de 0,85 % de NaCl (ser fiziologic).
2. Sol.Lugol (iodat de caliu - 3 g, iod cristalin 1,5 g, apă distilată - 100 cm^3). Soluţia este stabilă la păstrarea în veselă din sticlă brună la temperatura camerei timp de o lună.

Echipament special: Microscop, lame, lamele, baghete de lemn cu lungimea de 10-15 cm., cu grosimea de 2-3 mm.

Tehnică de lucru: Pe lamă se aplică câte 2 picături de ser fiziologic şi soluţie Lugol la o distanţă de 2-3 cm. Apoi cu o baghetă de lemn se i-a o porţiune de materii fecale (pe vârful baghetei) şi se amestecă cu picăturile de ser fiziologic. Atunci cînd se depistează elemente patologice (mucus, puroi) acestea deasemenea vor fi luate în studiu. Cu aceiaşi baghetă se va lua o altă porţiune de material biologic şi se va amesteca cu picăturile de sol. Lugol. Ambele picături se acoperă cu lamele (24 x 24 mm) şi se examinează la microscop mai întâi la mărimi mici (15 x 8) apoi la mărimi medii (15 x 40) cu lumină slabă (condensorul coborât). Emulsia de pe lamă trebuie să fie de mărime optimală (să nu se prelingă de sub lamelă, în caz contrar preparatul se aruncă în soluţie dezinfectantă şi se pregăteşte altul) şi de consistenţă medie; în preparatul prea dens e dificilă microscopia, în preparatul prea subţire e insuficient numărul elementelor parazitare. Prin frotiul pregătit corect se citeşte uşor textul cu litere de tipar.

Aprecierea rezultatelor: Se studiază la microscop 2-3 preparate şi se depistează toate elementele parazitare prezente în materialul biologic. În cazuri dubioase se vor repeta 3 analize pe parcursul a 1-2 săptămâni. Tehnica respectivă permite identificarea trofozoiţilor şi chistilor protozoarelor intestinale în divers material biologic, cu condiţia ca intensitatea parazitară a probei să fie suficientă. Concomitent cu diferite protozoare saprofite, procedeul descris permite depistarea agenţilor etiologici ai amibiazei (Entamoeba histolytica), balantidiazei (Balantidium coli) şi giardozei (Lamblia intestinalis).

În fecalele omului Amiba dizenterică poate fi întâlnită în trei variante: forma tisulară (histolytica tisulară), luminală (minuta intestinală) şi chist. Depistarea formei tisulare la pacienţi confirmă diagnoza de amibiază acută. Formele luminale şi chisturile sînt decelate la purtătorii sănătoşi sau în perioada de convalescenţă.

Forma tisulară a amibei dizenterice are mărimea de 20-30 mkm şi o endoplasmă vâscoasă, cu o structură granulară fină şi o ectoplasmă clară, care formează pseudopode în formă de degete cu ajutorul cărora amiba se deplasează. Direcţia de deplasare se poate schimba brusc, ca răspuns la condiţiile microclimatului. Endoplasma de obicei conţine eritrocite. Nucleul este sferic, înconjurat de o membrană nucleară. În centrul lui se află un singur cariozom înconjurat de un halou clar. În frotiul nativ nucleul este greu vizibil. Forma luminală este comparativ mai mică şi are un diametru de 15-20 mkm, nu este hematofag. Citoplasma este vacuolizată şi conţine incluziuni din conţinutul intestinului (bacterii, fungi). Chistii sunt

rotunzi sau mai rar ovali, cu diametrul 11-15 mkm, cu o membrană biconturată. În frotiul colorat cu sol. Lugol la chistul matur se observă 4 nuclee; la cel tânăr 1-3 nuclee şi vacuole cu glicogen de culoare cafenie, intensitatea cărea se află în funcţie de stadiul de digestie.

7.2.2. Identificarea protozoarelor intestinale în fecale folosind conservanţii

Principiul. Protozoarele intestinale se fixează în fecale cu soluţia de conservanţi. Particularităţile morfologice ale formelor vegetative şi chistice ale protozoarelor se păstrează nemodificate timp îndelungat.

Reactivi:

1. Conservantul Burrows:

a) Soluţia de conservant

NaCl - 0,7 g

Formalină concentrată - 5,0 cm^3

Alcool etilic 96 -12,5 cm^3

Fenol cristalin - 2,0 g

Apă distilată până la 100,0 cm^3

b) Soluţia de colorant:

0,01% soluţie de tionină sau azur.

Conservantul Burrows se foloseşte în cazurile când cercetarea materialul conservat este posibilă în termenul de până la o lună de zile.

2. Conservantul Safaraliev:

$ZnSO_4$ - 1,65 g

Formalină concentrată - 10,0 cm^3

Fenol cristalin - 2,5 g

Acid acetic concentrat - 5,0 cm^3

Albastru de metilen - 0,2 g

Apă distilată până la - 100,0 cm^3

Conservantul Safaraliev se foloseşte în cazurile când materialul conservat trebuie de păstrat pînă la efectuarea cercetărilor pe un termen mai mult de o lună.

Echipament special : Microscop, flacoane de penicilină, baghete de sticlă sau lemn.

Tehnică. Conservantul se toarnă în flacoane de penicilină aproximativ până la jumatate din volumul lor. Materialul de cercetat de la fiecare bolnav se introduce imediat în flacon, în volum ce corespunde aproximativ 1/3 din volumul conservantului luat.

Flaconul se astupă cu un dop de cauciuc, care se fixează cu scoci. Pe fiecare flacon se vor lipi etichete cu inscripţii ce conţin datele bolnavului. Important este ca înainte de cercetare materialul conservat să nu fie agitat. De pe fundul flaconului cu pipeta se i-a o picătură de sediment şi se transferă pe o lamă. Apoi cu o baghetă de sticlă sau lemn se emulsionează bine până obţinem o emulsie. Daca materialul a fost colectat în conservantul Burrows, atunci emulsia obţinută se va dilua cu o picătură de soluţie de colorant, după ce preparatul se va acoperi cu o lamelă şi se va studia la microscop cu obiectivul mediu (15x40). În anumite cazuri este raţional de a folosi şi sistema de imersie.

Aprecierea rezultatelor. Se studiază 2-3 preparate şi se înregistrează toate protozoarele depistate. Diagnosticul diferencial se efectuează după criteriile descrise pentru frotiul colorat cu soluţia Lugol. Însă, trebuie de luat în consideraţie, că spre deosebore de soluţia Lugol, coloranţii folosiţi în sol.de conservanţi nu colorează glicogenul, ci, dimpotrivă, permit de a evalua corpusculii cromatidici. Protozoarele în materialul conservat se colorează în albastru.

Structura internă a balantidiilor în materialul conservat devine indistinctibilă (inaccesibilă vederii), deaceea aceştea sunt depistaţi după stratul de cili în chip de pâslă de la periferia celulei.

Notă: Tionina şi azurul pot fi substituiţi cu soluţia de 0,01% albastru de metilen.

7.2.3. Identificarea protozoarelor intestinale în materiile fecale prin metoda de îmbogăţire cu formalină-eter

Principiu. La prelucrarea fecalelor cu formalină-eter are loc separarea şi concentrarea chistilor proto-

zoarelor intestinale.

Reactivi :

1. Sol.de formalină: 10 cm^3 formalină concentrată, 0,85 g de NaCl şi apă distilată până la 100 cm^3.

2. Eter sulfuric.

3. Sol.Lugol : iodură de caliu - 3,0 g, iod cristalin - 1,5 g, apă distilată până la 100 cm^3. Este stabil timp de o lună la păstrarea într-un vas de sticlă întunecată la temperatura camerei.

Echipament special : Lame, lamele, baghete de lemn cu lungimea de 15 cm şi grosimea 2-3 mm, eprubete, pipete, centrifugă, microscop, vată.

Tehnică. În eprubete se toarnă câte 6 cm^3 soluţie de formalină. Cu bagheta de lemn se i-a o porţiune de materii fecale de mărimea unui bob de mazăre şi se emulsionează minuţios, apoi se adaugă 2 cm^3 de eter, se astupă cu dop de cauciuc, se agită eprubeta energic timp de o minută şi se centrifughează 3 minute la 1500 tur/min. După centrifugare între stratul de formalină şi eter se formează un strat de fecale, care apoi atent se desprinde cu o baghetă de lemn de pereţii eprubetei. În continuare supernatantul se înlătură cu excepţia sedimentului de la fundul eprubetei. Ţinind eprubeta cu gura în jos pereţii ei se şterg repede cu un tampon de vată, înlăturind cât mai mult lichid. Apoi întorcând eprubeta cu gura în sus, cu pipeta se i-a lichidul rămas pe fundul eprubetei şi se transferă pe o lamă. Se adaugă o picatură soluţie Lugol, se acoperă cu lamela şi se microscopiază la mărimi mici şi medii. În caz de necesitate emulsia de fecale se păstrează timp de 24 sau 48 ore.

Aprecierea rezultatelor. La cercetarea preparatului se inregistrează toate protozoarele intestinale depistate. Metoda dată permite de a identifica chistii protozoarelor intestinale.

7.2.4. Identificarea lishmaniei în frotiurile măduvei osoase

Principiul. Identificarea lismaniei în frotiul fixat şi colorat pregătit din maduva osoasă.

Reactivi :

1. Alcool metilic sau alcool etilic absolut, sau amestecul Nichiforov (amestec de cantităţi egale de eter şi alcool etilic absolut).

2. Soluţie tampon cu pH 6,9-7,1: se amestecă 40 cm^3 de sol. KH_2PO_4 (9,078 g substanţă uscată KH_2PO_4 în 1 l de soluţie) şi 60 cm^3 soluţie de Na_2HPO_4 (11,876 g substanţă uscată în 1 l de soluţie).

3. Azur-eozin Romanovski.

4. Soluţie de lucru pentru coloraţia Romanovski. Se pregăteşte înainte de colorare prin diluarea azur-eozinei Romanovski în sol. tampon fosfat cu pH 6,9-7,1. Înainte de a folosi colorantul e nevoe de verificat preventiv calitatea lui şi de a stabili condiţiile optimale pentru colorarea preparatelor. Acest lucru este mai comod de efectuat pe frotiuri subţiri de sânge uman.

Se determină :

1) utilizarea seriei date de colorant pentru lucru;

2) concentraţia de lucru a colorantului, adică diluţia colorantului Romanovski de bază;

3) durata colorării frotiului.

În preparatul bine colorat lipseşte sedimentul colorant. Eritrocitele capătă o nuanţă roz-albastră. Nucleul leucocitelor se colorează în roşu-violet închis, foarte bine se evidenţiază structura cromatinei. Citoplasma limfocitelor se colorează în albastru, iar a monocitelor – în albastru-cenuşiu.

Aparataj special: Microscop, cuve pentru colorare, lame, lamă şlefuită.

Mersul identificării.

Pregătirea frotiului. Materialul colectat în timpul puncţiei măduvei osoase imediat se transferă pe o lamă şi foarte atent pentru a nu leza şi deforma celulele se întinde într-un strat subţire cu o lamă şlefuită.

Fixarea frotiului. Frotiul astfel pregătit se usucă la temperatura camerei, apoi se fixează 30 minute în alcool etilic absolut sau în amestecul Nichiforov, sau 5 minute în metanol, şi iarăşi se usucă la aer. Frotiurile fixate se pot păstra câteva zile.

Colorarea frotiului. Lamele cu frotiurile fixate se instalează pentru colorare în stative sau se aşează cu frotiul în sus pe baghete de sticlă. Pe toată suprafaţa frotiurilor se toarnă colorant diluat în soluţie tampon (aproximativ 3-5 cm^3) şi se lasă pe 30-50 minute. Timpul de colorare depinde de temperatura camerei, într-o

cameră caldă timpul de colorare e mai scurt, iar în cea rece – mai îndelungat. După colorare preparatul se clăteşte cu apă distilată sau fiartă şi se usucă. Frotiul uscat se microscopiază cu sistema de imersie fară lamelă.

Aprecierea rezultatelor. În momentul culminant al maladiei lishmaniile deobicei se află în cantităţi considerabile şi uşor se depistează după câteva minute de la începutul examinării. Însă în stadiile timpurii ale bolii şi în cazurile tratate se cere un timp mai îndelungat pentru cercetarea întregului frotiu (nu mai puţin de 40 min). Lishmaniile se depistează în macrofagi sau extracelular, au formă ovală rotungită sau corpuri alungite cu diametrul 3-5 mkm. Citoplasma are o structură fină şi se colorează în albastru cenuşiu, nucleul situat central sau la una din extremităţi - în roşu-violet. În citoplasmă se găseşte cinetoplastida – o porţiune rotungită sau alungită, care se colorează mult mai intens decât nucleul.

Agentul lishmaniozei viscerale este *Leishmania donovani* - parazit intracelular care afectează sistemul citofagic. În fosta URSS era răspândită forma mediteraneană a lishmaniei viscerale, de care suferă preponderat copii de vârstă mică. Se întîlneşte sub formă de cazuri sporadice în toate republicile Transcauziene, ale Asiei Mijlocii şi Kazahstan. Cazuri de importare a acestei boli sunt posibile şi în ţara noastră. Fără aplicarea tratamentului boala se termină prin deces.

Notă: Lishmaniilee uneori pot fi confundate cu :

1) plachete sanguine sau "fragmente" de celule (resturi de citoplasmă, care conţin substanţă nucleară), care se întâlnesc în frotiul măduvei osoase;

2) microorganisme străine (alge unicelulare) care nimeresc în preparat în timpul coloraţiei. În frotiu ele se colorează mult mai intens ca leishmania - citoplasma în albastru închis şi nucleul în roşu-zmeuriu aprins, cinetoplastida lipseşte.

7.2.5. Identificarea leishmaniei în frotiuri din infiltratul pielii şi mucoasei

Principiu. Identificarea leishmaniei în conţinutul infiltratului în frotiul fixat şi colorat.

Reactivi şi materiale speciale. Aceleaşi, folosite la identificarea leishmaniei în măduva osoasă.

Tehnică. Materialul de cercetat se recoltează din tuberozitate (stadia iniţială a procesului) sau la hotarul infiltratului în perioada mai avansată a procesului). Tuberozitatea sau porţiunea de infiltrat la început se prelucrează cu un tampon îmbibat cu alcool, apoi aceasta se apasă cu două degete pentru a înlătura sângele şi, continuând presiunea cu degetele, cu vîrful ascuţit al bisturiului (mai bine cu cel olftamic) se efectuează o incizie superficială a pielii. În caz de apariţie a sîngelui el se înlătură cu un tampon de tifon. De pe fundul şi marginile inciziei cu acelaşi bisturiu se efectuează o răzuire a ţesutului afectat şi apoi raclatul obţinut rapid se stratifică într-un strat subţire pe o lamă. Se pregătesc câteva frotiuri de acest fel. Frotiurile se usucă, se fixează cu metanol sau cu amestecul Nichiforov şi se colorează după Romanovski.

Aprecierea rezultatelor. În preparat trebuie să se vadă bine celulele infiltratului - macrofagii, celulele endoteliale, plasmatice, celulele limfoide, fibroblaştii şi un număr mic de celule a sîngelui periferic. Prezenţa în preparat a celulelor epiteliale, precum şi a blocurilor nestructurate, care se colorează uniform în liliachiu, înseamnă că raclatul a fost luat prea superficial şi trebuie repetat. În frotiu nu trebuie să fie prea mult sînge, puroi şi bacterii. Leishmaniile (Leishmania tropica) se depistează în macrofagi şi de asemenea extracelular sub formă de corpuri rotunde, ovale sau alungite cu mărimea de 3-5 mkm. La prelucrarea cu colorantul Romanovski citoplasma leishmaniilor se colorează în albastru deschis sau albastru, nucleul este roşu-violet. Se vede bine cinetoplastida după coloraţia sa mai închisă decât nucleul. Leishmania se identifică uşor în tuberculul sau în infiltratul marginal al ulcerului la etapa de ulceraţie. În eliminările purulente ale ulceraţiilor pot fi depistate numai leishmanii deformate şi distruse, după care nu poate fi stabilit diagnosticul. În faza de cicatrizare leishmaniile se depistează foarte rar.

7.2.6. Identificarea leismaniilor în ţesutul afectat prin metoda cultivării

Principiu. După însămânţarea raclatului obţinut din ţesuturile afectate ale pacientului pe un anumit mediu de cultură leishmaniile se înmulţesc şi pot fi depistate la microscop.

Componenţa mediului : agar - 14,0 g;

NaCl - 6,0 g;

sânge defibrilat de iepure, colectat din inimă înainte de pregatirea

mediului - 150,0 cm^3;

Apă distilată - 900,0 cm^3.

Mediul se pregătește în modul următor: Într-un balon de sticlă se toarnă apa distilată și se adaugă NaCl și agar. Balonul se încălzește până când agarul se topește complet și se sterilizează în autoclav la 1,5 atm 20-30 minute. Apoi în balonul cu agarul răcit până la 56 °C se adaugă sângele steril, se agită prin rotire și câte 4 cm^3 de soluție obținută în așa mod se repartizează în eprubete cu o pipetă sterilă. Balonul cu agarul sangvin se ține în baia de apă la temperatura de 56 °C. Eprubetele cu mediu se înclină. După răcirea agarului eprubetele se transferă într-un termostat la 37 °C pentru controlul sterilității și obținerea lichidului condensat. Dacă pe fundul eprubetei nu se formează destul lichid condensat atunci înainte de însămînțare se poate de adăugat până la 1 cm^3 soluție de 0,85% NaCl, 1% sol.peptonă, sol.Henx, hidrolizat de lactalbumină sau alte soluții nutritive în concentrație izotonică.

Tehnică. La evidențierea culturii se respectă strict regulile de sterilitate. Porțiunea de piele cercetată se prelucrează cu alcool de 70% cu un tampon de vată. După evaporarea alcoolului cu bisturiul se efectuează o tăitură a tuberozității cu adîncimea de 2-3 mm. Cu pipeta Paster sterilă se colectează conținut seros care se transferă în eprubeta cu mediul de cultură. Această manipulație se efectuează de câteva ori, de fiecare dată transferând materialul colectat într-o altă eprubetă. Dopurile de vată se acoperă cu parafină sau se îmbracă cu capace de cauciuc și eprubetele se introduc în termostat la temperatura 22-24 °C.

Aprecierea rezultatelor. Însămânțările se cercetează în fiecare zi la microscop pentru depistarea germenului în frotiul nativ, pregatit după metoda picăturii strivite cu obiectivul x 40.

Rezultatul se socoate negativ dacă după 40 de zile după însămânțare în frotiu nu se depistează agentul patogen. Leishmaniile cultivate capătă o formă alungită (10-12 mkm) cu flageli. Lipsa leishmaniei la însămânțare nu poate servi drept temei de a pune diagnoza negativă. Metoda culturală este mai oportună în cazul formei tuberculoide a leishmaniozei, diagnosticul cărea prin alte metode poate fi mai greu de stabilit.

7.3. Metodele de cercetare a materialului biologic la prezența helminților, fragmentelor lor și ouălor

7.3.1. Identificarea helminților în fecale

Principiu. Helminții sau fragmentele lor se observă ușor pe fon întunecat, ei se identifică la examinarea fecalelor diluate cu apă.

Reactivi : Glicerină.

Aparataj special: lupă, cutia Petri, pipete, lame, microscop.

Tehnică. Fecalele se amestecă cu apă până la căpătarea unei suspensii omogene, după ce la lumină bună se cercetează minuțios porțiuni mici de suspensie în cuve fotografice de culoare neagră sau în cutii Petri pe fond negru. Cu penceta sau ace de preparat se extrag toate particulele suspecte de culoare albă. Formațiunile mari, suspecte pentru fragmentele de helminți se examinează cu lupa între două lame. Dacă după indicațiile clinice se suspectă prezența helminților mici (tenia nana sau altor helminți) sau scolexele cestodelor după tratament, particulele suspecte se examinează cu lupa într-o picătură de glicerină, iar în caz de necesitate la microscop.

Aprecierea rezultatelor. Diagnosticul diferențial dintre diferite genuri de helminți se bazează pe particularitățile lor anatomo-morfologice. Determinarea apartenenții de gen la nematode, de regulă, este posibilă la examenul exemplarelor integri, uneori pe fragmente mari, care și-au păstrat organele necesare pentru identificare. Cestodele pot fi diagnosticate după segmentele mature, segmentele hermafrodite și scolexe. Diagnosticul diferențial al genului este descrisă în literatura de specialitate.

Notă. În lipsa glicerinei preparatele pot fi examinate într-o picatură de apă.

7.3.2. Identificarea ouălor de helminți în fecale prin metoda frotiului gros (metoda Katoh)

Principiu. Ouăle de helminți se identifică în frotiul gros de fecale după prelucrarea cu glicerină și colorate cu verde de malahit.

Reactivi :

1. Soluție apoasă 3% de verde de malahit.
2. Glicerină.
3. Soluție apoasă 6% de fenol.
4. Amestecul Katoh: 6 cm^3 sol.apoasă verde de malahit de 3%, 500 cm^3 glicerină, 500 cm^3 sol.fenol de 6%. Este stabil la păstrare în veselă de culoare brună la temperatura de cameră.
5. Benzi de celofan după Katoh. Celofanul se tae în benzi mici 20 x 40 mm și se afundă în amestecul Katoh, astfel ca ele să fie lipite una de alta (3-5 cm^3 de amestec Katoh la 100 de benzi). Peste 24 ore sunt gata pentru folosire. Benzile astfel pregătite se păstrează în sol.Katoh în vesela bine închisă, la temperatura camerei timp de 6 luni.

Tehnică. O porțiune mică de fecale de mărimea unui bob de grâu se transferă pe o lamă, se acoperă cu banda de celofan pregătită după Katoh, și se strivește cu un dop de cauciuc în așa fel ca fecalele să se împrăștie pe lamă în limitele benzii de celofan, dar să nu se prelingă de sub ea. Frotiul se lasă la temperatura camerei pentru iluminare, apoi se studiază la microscop. Timpul de iluminare depinde de temperatura camerei însă chiar într-o cameră rece nu depășește mai mult de o oră; în timpul cald al anului pentru a evita uscarea frotiului el se microscopiază după 30-40 min. În unele cazuri pentru evitarea uscării excesive a frotiului pe banda de celofan a preparatului pregătit se aplică un burete umed.

Aprecierea rezultatelor. Se examinează ouăle depistate în tot frotiul, determinînd vizual specia lor. Prin această metodă se identifică contaminarea cu ascaride, tricocefali, cestode, oxiuri, trematode, teniide și altele; mai rar - cu anchilostome și tenia mică. În cazurile unor intensități joase de parazitare, această metodă se va combina cu metodele de îmbogățire.

7.3.3. Identificarea ouălor de helminți în fecale prin metoda de îmbogățire

Principiu. Materiile fecale se suspendează în soluția de flotare, care are o densitatea mai mare ca ouăle de helminți (mai mare de 1,2). Ouăle de helminți flotează la suprafață, formând o peliculă care se cercetează la microscop.

Reactivi:

1. Soluția de flotație Kalantarean - 1 kg azotat de sodiu se dizolvă în 1 l de apă, amestecul se ferbe până la apariția peliculei la suprafață, se răcește și se transferă în sticle fără a fi filtrat. Densitatea soluției este egală cu 1,38.
2. Soluție de flotație Brudastov și Krasnonos - 900 g azotat de sodiu și 400 g azotat de potasiu se dizolvă în 1 l H_2O la încălzire. Densitatea - 1,47-1,48.

Echipament special: Microscop, pahare chimice sau borcane cu gâtul larg cu volumul 100 cm^3, baghete de sticlă, sticluțe portobiect.

Tehnică. În pahare chimice sau borcane se ia 5-10 g fecale (1/2 lingură), se amestecă bine cu una din soluțiile de flotație luate în volum de 100 cm^3. Imediat după amestecare cu bagheta de sticlă se înlătură fragmentele mari ce au apărut la suprafață. Apoi pe suprafața soluției saline se aplică o lamă. Dacă între amestec și lamă rămîne spațiu gol, atunci se adaugă soluție salină până la contactarea cu lama. Se lasă pe 20-30 min pentru limpezire, după ce lama cu o mișcare rapidă se întoarce cu suprafața umedă în sus și se microscopiază la mărimi mici (10x8).

Pentru ca pelicula să nu se usuce în timpul microscopierii se adaugă 2-3 picături 50% glicerină.

Aprecierea rezultatelor. Se iau în considerație toate ouăle de helminți depistate în frotiu. Prin această metodă se pot identifica infectarea cu ascaride, tricocefal, anchilostome, trematode, teniide, cestode și alte genuri de helminți.

Notă: În lipsa azotatului de potasiu se poate folosi soliția saturată de sare de bucătărie (metoda Fulleborn), care se prepară în modul următor: la 1 l apă se adaugă 400 g NaCl, se fierbe până la dizolvarea cristalelor de sare, se răcește și se filtrează. Soluția cortect pregătită are în sediment cristale nedizolvate (densitatea 1,18 - 1,20). Deoarece ouăle cu o densitate înaltă (ascaride nefecundate, trematodele, ouăle mari de cestode) nu flotează, la practicarea metodei Fulleborn se va examina adăugător 2-4 frotiuri pregătite din sediment. Pentru aceasta, după examinarea peliculei de la suprafață, suspensia se varsă, se colectează cu pipeta 6-8 picături de sediment, se aplică pe lame și se examinează la microscop.

Cu succes poate fi folosită și soluția saturată de azotat de amoniu (metoda Lughin), care se va prepara

astfel: la 1L de apă din robinet se adaugă 1,7 kg NH_4NO_3 şi se fierbe până la dizolvarea cristalelor (densitatea 1,30) (tabel 7.1).

Tabel 7.1

Autorul metodei	Formula chimică a sării, folosite pentru pregătirea soluţiei de flotare	Raportul sare/ apă la pregătirea soluţiei de flotare	Densitate a soluţiei de flotare	Raportul fecale/soluţia de flotare	Termenii de prelevare a peliculei superficiale (min)
Filleborn	NaCl	400 g/l	1,20	1:20	40-45
Kalantarean	$NaNO_3$	1:1	1,38	1:20	20-25
Lughin	NH_4NO_3	1,7 kg/l	1,30	1:20	20-25

Notă: În soluţia saturată de NaCl după 10 min de sedimentare în pelicula superficială flotează o cantitate maximală de ouă de anchilostomide, 40% de ouă de Trihocephalis trihiuris şi 55% ouă de ascaride. Cantitatea maximală de ouă de Hymenolepis nana flotează după 15-20 min, ouălelor de Trihocephalis trihiuris după 2-3 ore, ouă de ascaride - după 1,5-2 ore.

În soliţiile saturate de azotat de sodiu şi azotat de amoniu în primele 10 min de sedimentare în peliculă se depistează până la 50% din toată cantitatea de ouă care au flotat ulterior şi mai mult de 80% de ouă de ascaride.

Cantitatea maximală de ouă de Trihocephalis trihiuris se depistează după 3 ore, ouă de ascaride - după 1 oră, ouă de anchilostomide - după 10 min, iar ouăle de Hymenolepis nana după 10 - 15 min.

7.3.4. Identificarea ouălor de helminţi în fecale cu folosirea detergenţilor (metoda Krasilnicov)

Metoda I.

Principiu. Sub acţiunea detergenţilor are loc separarea ouălelor de helminţi de masele fecale şi concentrarea lor în sediment.

Reactivi : 1. 1% sol.detergent (10 g detergent la 1 l apă din apeduct).

Echipament special : Microscop, dulap de uscare, pahare chimice (30-50 cm^3), lame, lamele de celofan după Katoh, pipete Paster cu virful alungit.

Tehnică. În paharul chimic cu capacitatea de 30-50 cm^3 se toarnă 20-30 cm^3 de soluţie de detergent, tot acolo se adaugă o porţiune nu prea mare de fecale de mărimea unei alune. Raportul soluţiei şi fecalelor trebuie să fie aproximativ de 1:20. Fecalele trebuie să se afle în soluţie nu mai puţin de 24 ore. În acest timp pe fundul vasului se formează un precipitat din 2-3 straturi. Stratul de jos este constituit din particule grele, mari, în stratul din mijloc se concentrează ouăle de helminţi, deasupra cărora uneori sedimentează fulgi uşori. Cu pipeta Paster se ia 2-3 picături de soluţie din stratul mediu şi se transferă pe o lamă. Picătura se acoperă cu lamela Katoh şi se cercetează la microscop. Pe o sticluţa se pregătesc 2 preparate.

Metoda II.

Principiul - acelaşi.

Reactivii - aceiaşi.

Materiale - aceleaşi.

Tehnică. Fecalele se introduc în soluţie de detergent în raportul 1:10 şi se amestecă până la formarea unei suspensii. După 30 min. conţinutul eprubetei se centrifughează 5 minute la 1000-1500 r/min. Din sediment se pregătesc 2 preparate pe o lamă.

Aprecierea rezultatelor. Se studiază ambele preparate la microscop în întregime, luînd în consideraţie toate ouăle de helminţi depistate.

Prin acestă metodă se pot identifica toate formele de helminţi, eliminate cu materiile fecale.

Notă:

1. Pentru pregătirea soluţiei poate fi folosit orice detergent luat în cantitate maximală care se dizolvă complet şi nu formează sediment.

2. Materiile fecale se amestecă cu sol.de detergent nu mai târziu de o oră după defecaţie.

7.4. Metode speciale de laborator pentru depistarea helmintiazelor

7.4.1. Metodele de cercetare la enterobioză

7.4.1.1. Depistarea ouălor de oxiuri în raclatul perianal cu folosirea spatulii de lemn.

Principiu – ouăle de helminţi, care se află în cutele perianale, se recoltează cu spatula de lemn şi se cercetează la microscop.

Reagenţi: Sol.50% glicerină sau sol.1% de bicarbonat de codiu ($NaHCO_3$).

Echipament special: spatule de lemn (pot fi folosite chibrite ascuţite sub formă de spatulă sau chibrite învelite cu un strat subţire de vată.

Tehnică: Raclatul din cutele perianale se prelevă dimineaţa până la defecaţie (la femei şi până la micţiune) sau seara până la culcare. Prelevarea se efectuează atent de pe suprafaţa cutelor perianale cu spatula de lemn umectifiată în sol.50% glicerină sau în sol.1% bicarbonat de sodiu.

Materialul astfel obţinut se răzueşte minuţios de pe spatulă cu marginea unei lame pe altă lamă într-o picătură sol.50% glicerină şi se microscopiază la mărimi mici. Spatula folosită se arde. La examinarea lucrătorilor din sfera alimentară, alimentaţiei publice, este mai comod de a folosi materialul din spaţiile subunghiale, utilizând un amestec din cantităţi egale de sol.50% glicerină şi sol.Lugol, deoarece în conţinutul spaţiilor subunghiale ale acestor contingente de lucrători uneori pot fi depistate cantităţi apreciabile de granule de amidon, ceea ce crează dificultăţi la identificarea ouălor de oxiuri. La utilizarea soluţiei Lugol granulele de amidon se colorează în albastru, iar ouăle de oxiuri – în galben.

7.4.1.2. Depistarea ouălor de oxiuri în conţinutul spaţiilor subunghiale

Principiu: Ouăle de oxiuri se prelevă din spaţiile subunghiale.La folosirea sol.50% glicerină şi sol.Lugol ouăle de helminţi colorate în galben pot fi uşor diferenţiate pe fonul incolor de granulele albastre de amidon şi fragmentele lor.

Reagenţi: sol.50% glicerină şi sol.Lugol

Echipament special: spatule de lemn (sau chibrite ascuţite în formă de spatule).

Tehnică. Proba din spaţiile subunghiale şi loja unghială se recoltează cu chibritul, ascuţit în formă de spatulă şi umectifiat în amestecul din volume egale sol.50% glicerină şi sol.Lugol şi apoi se cercetează ca şi în cazul raclatului perianal în acelaşi amestec.

Pentru diagnosticul enterobiozei în ultimul timp au început să se folosească benzi de polietilenă şi policlorvinil cu strat adeziv. Însă proprietăţile toxicologice ale acestora nu sunt studiate şi deaceea utilizarea lor este limitată. Se permite folosirea benzilor adezive pregătite din emplastrul adeziv de pansament inofensiv din punct de vedere toxicologic.

7.4.1.3. Depistarea ouălor de oxiuri în cutele perianale cu folosirea benzilor adezive

Principiu: - ouăle de helminţi aderează pe benzile adezive, aplicate pe cutele perianale.

Reagenţi: - benzi adezive confecţionate din emplastrul adeziv pentru pansament.

Echipament special – lancete.

Tehnică: Benzile adezive 10x2 cm cu ajutorul lancetei se aplică în regiunea perianală. Banda trebuie comprimată la piele în întregime, după ce se netezeşte cu o baghetă metalică sau de lemn. Apoi banda adezivă se desprinde şi se transferă pe sticla portobiect. Între sticlă şi bandă nu trebuie să fie bule de aer. În laborator preparatul se studiază la microscop. Dacă examinarea preparatului la microscop nu se va efectua în aceeaşi zi, acesta trebuie păstrat la frigider.

7.4.1.4. Examenul la enterobioză cu folosirea baghetelor oftalmologice (metoda Rabinovici)

Principiu: ouăle oxiurilor aderează pe baghetele prelucrate cu un clei special şi aplicate pe cutele perianale.

Reagenţi: - clei special.

Echipament special: baghete oftalmologice cu diametrul părţii plate 8,0-10,0 mm, lungimea 75,0-80,0 mm.

În calitate de clei se foloseşte următorul compus: cleol - 10 g; ulei de ricină - 2,5 g; eter - 5,0 g; etanol 96° - 2,5 g. Se păstrează în flacoane închise.

Înainte de folosire baghetele de sticlă oftalmologice (partea mai plată) se cufundă în clei şi se lasă pe câtva timp pentru uscare la temperatura camerei. Se fixează în sticluţe cu un dop de cauciuc. Sunt comode în exploatare şi pot fi înmânate părinţilor pentru a recolta materiaslul biologic la toată familia în condiţii casnice.

Tehnică: Recoltarea materialului biologic se efectuează alipind partea lipicioasă a baghetei pe cutele perianale. În acest mod, pe o suprafaţă comparativ mică, se concentrează un număr considerabil de ouă de oxiuri, care se păstrează timp îndelungat fără a suporta schimbări distructive esenţiale. Bagheta se introduce în sticluţă (sau penale speciale) şi se transportă în laborator.

Microscopia se efectuează cu ocularul 10, obiectivul 8. Se examinează nemijlocit bagheta pe ambele suprafeţe (în acest caz bagheta îndeplineşte funcţia de lamă), fixind-o în penale speciale. După examinare baghetele se prelucrează prin fierbere în soluţie de detergent (astfel compusul lipicios se spală iar ouăle de helminţi mor) şi se folosesc ulterior.

Aprecierea rezultatelor. Din toate tehnicile expuse anterior, metoda Rabinovici este cea mai eficientă şi comodă în aplicare graţie faptului ca:

- compusul lipicios nu se usucă vreme îndelungată;
- pe o suprafaţă mică se concentrază un număr relativ mare de ouă de helminţi, fapt ce permite depistarea lor şi la o intensitate joasă de parazitare;
- bagheta serveşte nemijlocit ca lama;
- ouăle îşi păstrează morfologia în acest compus vreme îndelungată;
- comodă în transportare, păstrare şi aplicare.

7.4.2. Metodele de cercetare la teniidoze

Principala metodă de diagnosticare a teniiarincozei, în special la examinarea în masă în focar, este indicarea în anamneză a eliminării proglotitelor. Pentru sporirea valorii diagnostice a acestui indiciu anamnestecul pacientului se efectuează cu demonstrarea segmentelor de teniide.

Destul de eficiente în diagnosticul teniarincozei sunt metodele raclatului perianal şi metoda Kato. Diagnosticul teniozei este dificil în legătură cu faptul, că eliminarea activă a segmentelor T.solium nu se petrece, materiile fecale în laborator se aduc în cantităţi limitate şi chiar această porţie nu se examinează în întregime. În caz de suspiciune la tenioză este necesar de a efectua dehelmintizarea diagnostică cu Biltricidă sau Albendazol.

7.4.3. Metodele de cercetare la strongiloidoză

Diagnosticul de strongiloidoză se stabileşte la depistarea în fecalii a larvelor de S.stercoralis. Cea mai eficientă metodă de depistare a larvelor de helminţi este procedeul clasic Baerman, care se bazează pe termotaxisul lor pozitiv.

7.4.3.1. Depistarea larvelor de helminţi după Baerman

Principiu: Metoda se bazează pe capacitatea larvelor de helminţi de a migra spre căldură.

Reagenţi: nu sunt necesari.

Echipament special – Stativ metalic, plasă metalică, clamă, pâlnii, tub de cauciuc, centrifugă.

Tehnică: Pe capătul îngust al pâlniei de sticlă se îmbracă un tub de cauciuc cu clamă și se fixază pe un stativ metalic. În pâlnie se montează o plasă metalică pe care se află 5-10 g de fecale. Ridicînd plasa, pâlnia se umple cu apă încălzită până la 40-45 °C în așa mod, ca partea de jos a plasei cu materiile fecale să fie în contact cu apa. Larvele prezente în fecalii trec activ în apa caldă și se acumulează în partea inferioară a tubului de cauciuc unit cu pâlnia. După 4 ore clama de pe tub se deschide și se colectează lichidul în 1-2 eprubete de centrifugat. Se centrifughează la 1500 turații/min 2-3 min, supernatantul se varsă rapid, iar sedimentul se transferă pe o lamă și se cercetează la microscop. La examenarea în masă la strongiloidoză în focare endemice se utilizează metoda Baerman modificată, după Brumpt

7.4.3.2. Metoda simplificată de depistare a larvelor de S.stercoralis în fecale la examinarea în masă (metoda Brumpt)

Principiu: Același.

Reagenți: Nu sunt necesari.

Tehnică: materiile fecale se colectează în pahăre și se acoperă cu 10-15 cm^3 de apă din robinet de temperatura camerei. Peste 20 min apa se varsă în cutia Petri și se cercetează la microscopul stereoscopic binocular. La indicațiile clinice la strongiloidoză în caz de nedepistare a lavrelor în fecale prin metoda Baerman, se recomandă cercetarea conținutului duodenal și a bilei. Cercetarea conținutului duodenal și bilei se recomandă în caz de suspecție la helmintiaze cu localizarea agentului patogen în ficat, vezica biliară, duoden (opistorcoză, fascioloză, clonorcoză, dicrocelioză, tricostrongiloidoză).

7.4.4. Depistarea ouălor și larvelor de helminți în conținutul duodenal și bilă

Principiu: Ouăle și larvele de helminți care parazitează în ficat, vezica biliară, pancreas sau duoden pot fi depistate în bilă sau conținutul duodenal, colectat prin sondajul duodenal.

Reagenți: eter sulfuric.

Echipament special: Pahare chimice sau borcane, lamele sau plăcuțe de celofan după Katoh, centrufugă.

Tehnică: Conținutul duodenal și bila (porțiunile A, B, C) se obțin prin sondare. La colectarea porțiunei „B" este necesar de a obține reflexul vezicii biliare prin întroducerea în sondă a soluției 33% sulfat de magneziu.

Din lichidul de cercetat mai întâi se aleg și se examinează la microscop fulgii care plutesc în el, iar apoi lichidul se amestecă cu eter sulfuric în proporție 1:1. Amestecul se agită munuțios și apoi se centrifughează. Supernatantul se aruncă, iar sedimentul în întregime se examenează la microscop.

Notă: Dacă în bilă nu este prezent mucusul și puroiul, ea se centrifughiază fără eter sulfuric.

7.4.5. Metodele de cercetare la anchilostomiaze

În focare pentru depistarea anchilostomiazelor se folosește metoda de îmbogățire după Fulliborn sau după Kalantarean.

În focarele restante cu anchilostomiaze sau condiții clinice pentru diferențierea anchilostomiazelor de necatoroză se recomandă metoda de cultivare a larvelor.

7.4.6. Depistarea larvelor de helminți în materiile fecale prin metoda de cultivare pe hârtia de filtru (Metoda Harado și Mori modificată)

Principiu: Larvele din probă sau provenite din ouăle existente în probă se concentrează lent, în decurs de câteva zile, din materiale etalate pe hârtie de filtru, fiind atrase de apă.

Reagenți: Nu sunt necesari.

Utilaj special: lupă, termostat la 28^0, eprubete, benzi de hârtie de filtru 16-35 mm.

Tehnică: Pe o hârtie de filtru 16x35 mm se aplică în strat subțire fecale în așa mod ca capetele hârtiei să rămână libere de fecale. Apoi hârtia cu fecalii se transferă într-o eprubetă cu apă astfel, ca capătul de jos al hârtiei, liber de fecale să fie cufundat în apă. Eprubeta se transferă pe 5-6 zile într-un termostat la 28^{0}C. Larvele se dezvoltă în acest interval de timp din ouă, se deplasează în jos pe hârtia de filtru și se depun la fundul eprubetei.

La sfârşitul incubaţiei hârtia de filtru se înlătură din eprubetă şi se nimiceşte, iar lichidul ce cercetează cu lupa. În cazuri suspecte lichidul se centrifughează şi sedimentul se cercetează la microscop. (Atenţie! de lucrat numai în mănuşi).

Notă. În vremea caldă a anotimpului eprubeta poate fi lăsată la temperatura camerei, însă timpul de incubaţie se prelungeşte până la 8-10 zile.

7.4.7. Metoda de cercetare la helmintiazele pulmonare

În caz de suspecţie a helmintozelor, agenţii cărora parazitează în plămîni (paragonimus) sau trahee (Trominx aerofilus) este necesar de a cerceta sputa.

7.4.7.1. Depistarea ouălor de helminţi şi unor helminţi în spută

Principiu: Ouăle de helminţi se depistează în stratul subţire al sputei.

Reagenţi: Sol.0,5% hidroxid de sodiu sau potasiu

Utilaj special: Sputa se aplică pe o placă de sticlă sau lamă, se acoperă strîns cu altă placă sau lamă şi se studiază la început cu ochiul liber pe fundal alb sau negru, iar apoi la microscop.

Sputa purulentă se amestecă într-un balon de sticlă cu o cantitate egală de sol. 0,5% hidroxid de potasiu sau sodiu, se agită 3-5 minute, se încălzeşte uşor pe baia cu apă, se centrifughează 3-5 min la 1500 tur/min, iar sedimentul se examinează la microscop.

7.4.8. Metodele de cercetare la fasciolază

7.4.8.1. Depistarea ouălor de helminţi în fecale prin metoda spălăturilor consecutive (succesive)

Principiu: depistarea ouălor mari de fasciole în sedimentul spălat de fecale.

Reagenţi: Nu sunt necesari.

Utilaj special: Cutii Petri.

Tehnică: O porţiune mică de fecale se amestecă cu apă în cutia Petri şi se lasă pe câteva minute până la sedimentarea particulelor suspendate. Supernatantul se aruncă şi se substituie cu apă curată. Procedura se repetă de câteva ori până la obţinerea unui supernatant transparent, iar sedimentul spălat se cercetează la microscop. Pentru examinare se prepară câteva probe de fecale.

7.4.9. Examinarea urinei la schistosomiază

Principiu: Ouăle de S.haematobium se depistează în sedimentul urinar.

Reagenţi: Sol.Lugol sau sol.apoasă 1-2% albastru de metilen, sol. 50% de glicerină.

Utilaj special: Centrifugă, eprubete de centrifugare.

Tehnică: Urina pacientului în volum nu mai puţin de 50 cm^3, recoltată la mijlocul zilei, se transferă într-un păhar conic şi se lasă să se limpezească timp de 30 min. Urina limpezită se varsă. Apoi cu pipeta se aplică pe o lamă o picătură din sedimentul urinar, se prepară un frotiu care se cercetează la microscop la mărimi mici.

Adăugarea la sediment a 1-2 picături 50% sol.de glicerină măreşte considerabil transparenţa sedimentului şi facilitează examinarea lui. Se permite centrifugarea mai ales în caz de invazie de joasă intensitate.

Eşantionul de urină proaspăt colectată se transferă în 2 eprubete de centrifugare câte 10 cm^3 şi se centrifughează 5-10 min la 1000-1500 tur/min. Din precipitat se prepară frotiuri şi se examinează la microscop la mărimi mici. Adăugarea la preparate a 1-2 picături de colorant (sol.Lugol sau sol.1-2% albastru de metilen) formează un fundal colorat, care facilitează depistarea ouălor de S.haematobium.

7.5. Metode cantitative de diagnostic al helmintiazelor

În caz de necesitate pentru stabilirea intensităţii invaziei se folosesc metode cantitative de cercetare. Aceste metode dau posibilitatea de a aprecia calitatea dehelmintizării, eficacitatea diferitor preparate antihelmintice, precum şi de a determina eficienţa măsurilor curativ-profilactice efectuate. Cea mai simplă şi răspândită metodă cantitativă este tehnica Stoll.

7.5.1. Metodă cantitativă de diagnostic a helmintiazelor (tehnica Stoll)

Principiu: În suspensia omogenă de materii fecale şi hidroxid de natriu ouăle helminţilor se repartizează uniform în tot volumul obţinut. Aprecierea numărului de ouă într-o unitate de volum permite de a efectua recalcularea la tot volumul examinat şi respectiv la o unitate de masă de fecale.

Această metodă este aplicabilă în acele helmintoze, în care agentul etiologic îşi depune ouăle uniform (ascaridoza, tricocefaloza, anchilostomiaze).

Reactivi: sol. 0,1N NaOH.

Utilaj: microscop, lame, lamele, micropipete (0,01 mm), baghete sau mărgele de sticlă, cilindre cu volumul 100 cm^3, baloane de sticlă cu volumul 100-150 cm^3.

Tehnică: Balonul se gradează la volumele 56 şi 60 cm^3. Se toarnă sol. 0,1N NaOH până la nivelul 56 cm^3 apoi se adaugă fecale până la nivelul 60 cm^3. S-a stabilit că în aşa mod în balon se conţine aproximativ 4 g de materii fecale. Procedura se admite numai cu materialul oformat sau conservat.

Amestecul se agită minuţios cu ajutorul mărgelelor sau baghetei de sticlă până la obţinerea unei mase omogene. Cu micropipeta se colectează 0,075 cm^3 din suspenzia obţinută, se aplică pe o lamă şi se acoperă cu lamela. Se examinează la microscop toată suprafaţa frotiului, numărând toate ouăle depistate (în cazul invaziilor mixte se va număra fiecare specie separat). Numărul primit se va înmulţi cu 200, ceea ce va coincide cu numărul ouălor ce se conţin în 1 g de fecalii.

Exemplu: La examenul frotiului s-au depistat 15 ouă de ascaridă şi 5 de tricocefal, respectiv intensitatea invaziei este de 3000 ouă de ascaride şi 1000 ouă de tricocefal la 1 g de materii fecale.

7.5.2. Modificarea tehnicii Stoll cu folosirea soluţiilor de detergenţi (după Krasilnikov şi Volkova)

Modificarea constă în faptul că sol. 0,1N de NaOH este substituită cu o soluţie de un anumit detergent. Capacitatea emulgatoare înaltă a detergenţilor permite de a micşora diluţia materiilor fecale, fapt ce sporeşte sensibilitatea metodei.

Luând în consideraţie capacitatea detergenţilor de a conserva materialul biologic, examinarea se poate efectua şi în termeni mai târzii din momentul recoltării, atunci când sol. de NaOH poate deforma ouăle helminţilor, mai cu seamă a anchilostomidelor.

Tehnică: Fecalele (nu mai puţin de 1g) se amestecă cu soluţie de detergent în raport 1:10 şi se agită minuţios. Se măsoară cu pipeta 0,1 cm^3 de suspensie, se aplică pe lamă, se acoperă cu lamela şi se examinează la microscop, numărând toate ouăle depistate. Numărul primit se înmulţeşte cu 100, ceea ce prezintă numărul de ouă la 1g de materii fecale.

CAPITOLUL 8

EXAMENUL CONŢINUTULUI GASTRIC

8.1.Determinarea funcţiei de secreţie a stomacului

8.1.1. Stimulanţii secreţiei gastrice

Se folosesc stimulanţi enterali şi parenterali.

Stimulanţi paraenterali. Ca stimulanţi parenterali se folosesc clorura sau fosfatul de histamină.

Metoda de stimulare submaximală cu histamină. Pacientului i se introduce subcutanat clorură de histamină 0,008 mg/kg masă corp, sau histamină fosfat - 0,01 mg/kg masă corp. Efectul secretor al histaminei se manifestă după 7-10 minute, atinge nivelul maximal peste 45-60 minute şi se menţine pe parcursul următoarelor 1-1,5 ore, micşorându-şi treptat intensitatea.

Metoda de stimulare maximală cu histamină după Key.

Clorura de histamină se introduce subcutanat în doza de 0,024 mg/kg, iar fosfatul de histamină - 0,04 mg/kg masă corp a pacientului. Atunci când se foloseşte stimularea maximală cu histamină se vor administra în prealabil preparate antihistaminice (sol.suprastină 2% -2 cm^3).

Stimulaţia enterală. Din stimulanţii enterali se recomandă utilizarea decoctului (fierturii) de varză uscată de 7%.

Prepararea decoctului (fierturii) de varză uscată: la 21 g varză uscată se adaugă 500 cm^3 apă distilată şi se fierbe 30-40 minute, până la obţinerea volumului total al decoctului de aproximativ 300 cm^3. Apoi fiertura se filtrează prin 2 straturi de tifon într-un vas preliminar sterilizat prin fiebere şi se păstrează la frigider. Înainte de folosire fiertura se titrează: într-un balon Ehrleimeyer se toarnă 10 cm^3 de decoct, se adaugă 1-2 picături de fenolftaleină şi se neutralizează cu soluţie de NaOH 0,1M până la schimbarea culorii (culoarea faţă de cea iniţială devine închisă). Titrarea se efectuează pe fon alb comparând cu culoarea iniţială a fierturii. Titrul decoctului se măsoară în mmol/l.

Titrul decoctului de varză nu trebuie să depăşească 20 mmol/l. În caz contrar decoctul se diluează cu apă fiartă.

8.1.2. Recoltarea conţinutului gastric prin metoda fracţionată cu ajutorul sondei subţiri

Sonda subţire reprezintă un tub de cauciuc, cu grosimea aproximativă de 5 mm, diametrul lumenului de 2-3 mm, lungimea de 1,2-1,5 m. La capătul închis rotungit al sondei, la distanţa de 1,5-3,5 cm se află 2 găuri, prin care se efectuează aspiraţia conţinutului gastric. Sonda conţine 2 marcaje pentru localizarea orientativă a acesteia în stomac: unul la distanţa de 50-55 cm şi altul la distanţa de 70-75 cm de la capătul rotungit al sondei. Dacă sonda a fost introdusă până la primul semn, atunci capătul rotungit se află în regiunea fundului stomacului; propulsarea sondei până la al doilea semn mărturiseşte despre localizarea ei în regiunea sfincterului piloric. Sonda se sterilizează prin fierbere timp de 20 min înainte de întrebuinţare.

Metoda de colectare. Pacientului pe nemâncate (tubaje a jeun), după 14 ore de flămânzire (prânzire) i se introduce în stomac sonda subţire până la primul semn. Cu ajutorul seringi adaptate la capătul liber al sondei se extrage tot conţinutul stomacului. Obţinem porţia "pe nemâncate" a conţinutului gastric. În continuare timp de o oră peste fiecare 15 minute se colectează 4 porţii de conţinut gastric ("secreţia bazală").

După aceasta se administrează excitantul. Atunci când se foloseşte excitantul enteral după 25 minute după introducerea acestuia în stomac se extrage tot conţinutul gastric. Apoi timp de o oră, peste fiecare 15 minute se colectează 4 porţii succesive de conţinut gastric.

În cazul când se va aplica excitantul parenteral, imediat după administrarea acestuia, timp de o oră peste fiecare 15 minute se colectează 4 porţii consecutive de conţinut gastric. Aceasta corespunde "intensităţii secreţiei pe oră" după excitare. După aceasta sonda se extrage din stomac.

Nota:

1. Când contingentul de pacienţi este mare, este necesar de a efectua sondajul concomitent la mai multe persoane. În acest scop este oportună folosirea aspiratorului cu vid. La utilizarea aspiratorului cu vid recoltarea conţinutului gastric se efectuează fără întrerupere, însă porţiunile se colectează după fiecare 15 minute, analogic metodei de mai sus: timp de 1 oră până la introducerea excitantului şi timp de 1 oră după introducerea lui.

2. Metoda fracţionată de colectare a conţinutului gastric prevede examinarea obligatorie a secreţiei bazale şi a secreţiei stimulate după introducerea excitantului. Secreţia bazală şi cea stimulată se examinează timp de 1 oră. Aceasta înlesneşte compararea indicilor respectivi ai secreţiei, deoarece aceştea au fost obţinuţi după intervale egale de timp.

3. În cazul când la aplicarea decoctului de varză efectul acestuia asupra secreţiei gastrice lipseşte este oportun de a repeta sondarea cu folosirea dozelor submaximale sau maximale de histamină.

8.1.3. Determinarea acidităţii conţinutului gastric

Principiu: Conţinutul gastric se titrează cu sol. de NaOH 0,1 M în prezenta indicatorilor.

Reactivi: 1. Sol. alcoolică de fenolftaleină de 1%. Are intervalul de viraj al culorii în limitele pH-ului 8,2-10. Este stabil la păstrarea la temperatura camerei.

2. Sol. alcoolică de 4-dimetilaminoazobenzen 0,5% (galben de metil, galben de dimetil). Intervalul de viraj al culorii se află la pH-ul cuprins între 2,9-4,0. Este stabil la păstrarea la temperatura camerei.

3. Sol. hidrică de alizarinsulfonat acid de sodiu (roşu de alizarin CS) 1%. Intervalul de viraj a culorii se află la pH-ul cuprins între 4,3-6,3. Este stabil la păstrarea la temperatura camerei.

4. Sol. de NaOH 0,1M.

Utilaj: Biurete cu capacitate de 25 cm^3, 50 sau 100 cm^3, baloane conice Erlenmeyer cu volumul de 50 cm^3.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanţă tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $0,100 \pm 0,0005$ cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnică: În 2 baloane Erlenmeyer se măsoară câte 5 cm^3 de conţinut gastric filtrat prealabil. În primul balon se adaugă 1-2 picături sol.alcoolică de fenolftaleină 1% şi 1-2 picături sol. de dimetilaminobenzen 0,5%. În al 2-lea balon se adaugă 1-2 picături sol. alizarinsulfonat acid de sodiu. Se titrează cu sol. de 0,1M NaOH la agitaţie permanentă. În procesul de titrare conţinutul gastric işi schimbă culoarea în nuanţe diferite.

În prima porţie se fixează:

1) cantitatea de bază cheltuita la titrare până la virarea culorii roşii spre galben-portocaliu (culoarea morcovului). Aceasta corespunde cantităţii de HCl liber care se dozează cu ajutorul indicatorului dimetil aminoazobenzen;

2) cantitatea totală de NaOH utilizată la titrare până la trecerea culorii în roşu persistent. Aceasta corespunde acidităţii totale şi se determină în prezenţa fenolftaleinei.

În a doua porţie se fixează cantitatea de bază, cheltuită la titrare până la virarea culorii iniţial galbene a indicatorului alizarinsulfonatului acid de sodiu spre violet. Aceasta corespunde tuturor substanţelor acid reactante (cu excepţia acidului clorhidric combinat).

În fiecare porţie de conţinut gastric se determină cantitatea de acid clorhidric liber, aciditatea totală, şi - în caz de necesitate - acidul clorhidric legat de substanţe proteice (numit acid clorhidric combinat).

Calculul: Aciditatea conţinutului gastric se determină după cantitatea de cm^3 de NaOH 0,1 M chieltuită la titrarea unui litru (1 L) de conţinut gastric. Deoarece pentru titrare se iau 5 cm^3 de conţinut gastric, dar calculele se fac pentru 1 L de aceia cantitatea de bază se înmulţeşte cu 20.

I *Exemple de calcule*:
I porție:
1. 1,5 cm3 0,1 M NaOH (culoarea galben-portocalie);
HCl - liber = 1,5 · 20 = 30 mmol/l.
2. 2,6 cm3 0,1 M NaOH (culoare roșie persistentă);
Aciditatea totală = 2,65 · 20 = 52 mmol/l.
II porție:
2,0 cm3 0,1 M NaOH (culoare violetă) -
Compușii acido-reactanți cu excepția HCl-combinat = 2,0 · 20 = 40 mmol/l.
HCl-combinat = 52 - 40 = 12 mmol/l.

Pentru o apreciere mai obiectivă a funcției acidopoetice gastrice a fost introdusă noțiunea de "debit-oră". Ea caracterizează cantitatea de acid clorhidric eliminată timp de o oră și exprimată în mmoli.

Debit-ora de acid clorhidric se determină după formula:

$D = [V_1 E_1 + V_2 E_2 + V_3 E_3 + V_4 E_4] \cdot 0,001$, unde

V - volumul conținutului gastric în porția dată în cm^3;
E - concentrația de HCl în mmol/l în aceeași porție;
0,001 - numărul de milimoli de HCl ce se conțin în 1 cm^3 conținut gastric.

Deoarece valoarea "debit-orei" depinde de intensitatea secreției pe oră și de valoarea acidității, este necesar ca recoltarea conținutului gastric să se efectueze cât mai deplin.

Valorile normale ale secreției bazale:

Volumul secreției de 1 oră (efortul de o oră):
- de la 0,050 pina la 0,100 l.
Aciditatea totală - 40 - 60 mmol/l.
HCl liber - 20 - 40 mmol/l.
"Debit-oră" HCl - 1,5 - 5,5 mmol/l.
"Debit oră" HCl liber - 1,0 - 4,0 mmol/l.

Valorile normale ale reacției de secreție gastrică la excitanții alimentari:

Efortul de o oră - 0,050 - 0,110 l.
Aciditatea totală - 40 - 60 mmol/l.
HCl - liber - 20 - 40 mmol/l.
"Debit oră" HCl - 1,5 - 6,0 mmol/l.
"Debit oră" HCl-liber - 1,0 - 4,5 mmol/l.

Valorile normale ale reacției de secreție gastrică la stimularea submaximală cu histamină

Efortul de o oră - 0,100 - 0,140 l
Aciditatea totală - 80 - 100 mmol/l
HCl - liber - 65 - 85 mmol/l
"Debit oră" HCl - 8 - 14 mmol/l
"Debit oră" HCl - liber - 6,5 - 12 mmol/l

8.1.4. Determinarea activității pepsinei în conținutul gastric (metoda Tugolucov)

Principiu: Pepsina are proprietatea de a hidroliza proteinele din plasma uscată. Activitatea enzimei se calculează după cantitatea de substrat ce nu s-a hidrolizat în urma reacției fermentative.

Reactivi: 1. Soluție de plasmă uscată 2% în 0,1 M de HCl;

2. Solutie de acid tricloracetic 10%.

Utilaj: eprubete de centrifugă cu capatul inferior alungit și gradat.

Utilaj:

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul $100 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $10,0 \pm 0,1$ cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea $1,0 \pm 0,05$ cm^3;

Tehnica: Proba de cercetat: 1 cm^3 de conținut gastric filtrat și diluat în prealabil 1:100 cu apă distilată se transferă în eprubeta specială de centrifugat. Se adaugă 2 cm^3 soluție 2% plasmă uscată. Apoi se incubează 20 ore la 37 °C. După incubație se adaugă 2 cm^3 sol. de acid tricloracetic 10%. Se agită minuțios până la obținerea unei suspensii omogene. Se centrifughează 10 minute la 1500 r/min. Se măsoară cantitatea sedimentului în eprubetă.

Proba blanc. Se efectuează în mod analogic ca și proba de cercetat, însă ce folosește conținut gastric fiert în prealabil.

Calculul: Activitatea pepsinei se exprimă în mg/l. Calculul se efectuează după formula:

$$M = (A - B) \cdot \frac{40}{A}, \text{ unde:}$$

M - indicele de digestie a substratului;

A - cantitatea de sediment în proba de control;

B - cantitatea de sediment în proba de examinat;

40- marimea constantă (stabilită pe cale experimentală).

Valorile normale: Concentrația pepsinei în sucul gastric:

Staza - 0,0 - 0,21 g/l.

După stimulare - 0,20 - 0,40 g/l.

"Debit-oră" în secreția bazală - 10 - 40 mg.

"Debit-oră" la stimularea submaximală cu histamină - 50-90 mg.

Tabel 8.1

Recalcularea indicelui de digestie a substratului proteic (soluției de plasmă uscată) la concentrația de pepsină în conținutul gastric

Indicele de digestie a substratului (M)	Concentrația de pepsină (mg/l)	Indicele de digestie a substratului (M)	Concentrația de pepsină (mg/l)	Indicele de digestie a substratului (M)	Concentrația de pepsină (mg/l)	Indicele de digestie a substratului (M)	Concentrația de pepsină (mg/l)
1	5,0	11	37,0	21,5	90,0	31	680,0
2	8,0	12	40,0	22,5	100,0	32	770,0
3	10,0	13	45,0	23	120,0	33	860,0
4	15,0	14	47,0	24	160,0	34	960,0
5	17,0	15	50,0	25	200,0	35	1060,0
6	20,0	16	55,0	26	270,0	36	1200,0
7	25,0	17	62,0	27	340,0	37	1500,0
8	27,0	18	67,0	28	420,0	-	-
9	30,0	19	75,0	29	500,0	-	-
10	35,0	20	80,0	30	590,0	-	-

8.1.5. Determinarea activității pepsinei în conținutul gastric (metoda Anson în modificația Cernikov)

Principiu: Pepsina hidrolizează hemoglobina. Activitatea enzimei se determină dupa concentrația produselor de hidroliză formate în urma reacției enzimatice și care nu se sedimentează la acțiunea acidului tricloracetic.

Reactivi: 1. Sol. tampon de glicină 0,1 M, pH 1,5: 7,505 g glicină și 6,85 g NaCl se dizolvă într-o cantitate mică de apă distilată într-un balon cotat de 1 l, apoi cu H_2O dist. se aduce nivelul până la semn; 33 cm^3 de această soluție se amestecă cu 67 cm^3 sol.de HCl 0,1 M, apoi se controlează pH-ul. Este stabil timp de o lună la păstrare la frigider.

2. Soluție de HCl 0,1 N.

3. Sol. de hemoglobină 1% în sol. tampon de glicină. Se păstrează la frigider. Este stabil timp de o săptămână.

4. Sol.de acid tricloracetic 10%.

5. Pepsină cristalină.

Sol.de pepsină etalon. Sol. stoc - 7,5 mg de pepsină se dizolvă intr-o cantitate nu prea mare de H_2O dist. intr-un balon cotat cu capacitatea de 1 l, apoi cu H_2O dist. se aduce pina la semn. Soluția obținută conține 7,5 mg/l pepsină. Sol.de lucru se pregătește diluind sol. stoc de 2, 4, 8 ori obținând astfel diluții ce conțin 3,75 mg/l, 1,87 mg/l și 0,94 mg/l de pepsină.

Utilaj: Spectrofotometru, secundomer, baloane cotate;
- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnică de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,05 cm^3;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm^3;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Tehnică. Proba de examinat. Intr-o eprubetă de centrifugat se toarnă 1 cm^3 sol. de hemoglobină și 1 cm^3 de conținut gastric diluat de 10 sau 100 ori. Se incubează 10 min precis la 37 °C. Apoi se adaugă 3 cm^3 sol. de acid tricloracetic 10%, se agită minuțios și se lasă timp de o oră la temperatura camerei. Apoi se centrifughează 10 min la 1500 r/min. Se măsoară extincția supernatantului la 280 nm față de apa distilată.

Proba blanc. Se adaugă aceiași reactivi, insă acidul tricloracetic se adaugă inainte de incubație.

Calculul: Rezultatul se determină dupa curba etalon. Activitatea pepsinei se exprimă în mg/l de conținut gastric. Construirea curbei etalon. Probele de calibrare se pregătesc la fel ca și cele de examinat însă în loc de suc gastric se adaugă câte 1 cm^3 de sol. respectivă de pepsină.

Pe axa ordonatelor se depun extințiile, pe axa abciselor se depun - concentrațiile pepsinei în mg/l.

Pentru a determina conținutul pepsinei în conținutul gastric, rezultatul calculat pe curba de calibrare se înmulțește la diluția sucului gastric.

Valorile normale ale activității pepsinei se determină pe donori în fiecare laborator, deoarece norma depinde de activitatea pepsinei cristaline ce se folosește pentru construirea curbei etalon.

8.1.6. Determinarea conținutului total de acizi biliari, colesterol și a coeficientului colato-colesteric în bilă

Principiu: La interacțiunea acizilor biliari și a colesterolului cu clorura de fier în amestec cu acid acetic glacial și acid sulfuric concentrat se obțin compuși care au o absorbție maximală la diferite lungimi de undă la temperatura de 18-20 °C. Colesterolul formează un compus colorat cu absorbție maximală la lungimea 490 nm, iar acizii biliari formează compuși colorați la temperatura de 60 °C cu absorbție maximala la 365 nm.

Reactivi:

1.Acid sulfuric concentrat pentru proba Saval (ch.p.)

2. Clorură de fier hidrică ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$);

3. Acid acetic glacial (ch.p.);

4. Sol. stoc de clorură de fier: 280 mg $FeCl_3$ $6H_2O$ se dizolvă într-un balon cotat de 250 cm3 în 50-100 cm3 de acid acetic glacial, după dizolvare volumul se aduce cu acid acetic glacial până la semn.

5. Sol.de lucru de $FeCl_3$ $6H_2O$. Se amestecă volume egale de soluție stoc de $FeCl_3$ $6H_2O$ cu acid sulfuric

18-20 °C într-un vas de sticlă brună cu dop rodat timp de o lună.

6. Alcool etilic 96°.

7. Acid colic.

8. Sol.standard de acid colic în alcool etilic de 96°, 1,0 g/l. Soluția este stabilă la +4 - 5 °C.

9. Sol.standard de colesterol în alcool etilic 96°, 0,1 g/l. Soluția este stabilă la +4 - 5 °C.

Utilaj: Fotoelectrocolorimetru.

- eprubete 10 cm x 1 cm;
- balanță tehnica de lucru cu precizia de 0,01 g;
- baloane cotate cu volumul 100 ± 0,1 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 10,0 ± 0,1 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 1,0 ± 0,05 cm³;
- pipetă dozator cu capacitatea 0,100 ± 0,0005 cm³;
- cronometru cu eroarea măsurării cel mult 0,7 s, conform DN în vigoare;

Material pentru cercetare. Se folosesc 2 porțiuni - porția B și porția C de bilă proaspăt colectată. Porția B se diluează cu alcool etilic 96° de 10 ori, porția C de 5 ori, se centrifugheaza la 3000 r/min timp de 10 min.

Tehnică: La 0,2 cm³ supernatant se adaugă 3,0 cm³ soluție de lucru de clorură de fer, se agită și se centrifughează la 1000 r/min timp de 2-3 min pentru înlăturarea bulelor de aer. Peste 15-20 min de la adăugarea soluției de lucru de clorură de fer, se măsoară extincția probei de cercetat (produselor de reacție a colesterolului) la lungimea de undă 490 nm în cuve de 0,5 cm contra probei de control (blanc). Soluția examinată se toarnă inapoi în eprubetă și se întroduce în termostat pe 20 min la temperatura de 60 °C, apoi se scoate și se răcește până la 18-20 °C. Se măsoară extincția probei de cercetat (produselor de reacție a acizilor biliari) la 365 nm în cuve de 0,5 cm contra probei blanc.

Proba blanc - soluție de lucru de clorură de fier.

Calculele conținutului de colestol și acizi biliari (g/l) se efectuează după următoarele formule:

$Cab = K_2 \cdot E_{365} \cdot D$ și $Ccol = K_1 \cdot (E_{490} - 0,07 \cdot E_{365}) \cdot D$,

unde: E_{365}, E_{490} - valorile extincțiilor la lungimea de undă respectivă; D - diluția bilei.

Apoi se calculează coeficientul colato-colesterinic - raportul *Cab* către *Ccol*.

K_1 și $K2$ - coeficienții de proporționalitate, care se determină prin raportarea concentrației acizilor biliari sau colesterolului la valorile extincțiilor lor:

$$K = \frac{\Delta C}{\Delta E};$$

Aceste mărimi se determină pentru fiecare fotoelectrocolorimetru.

Pentru determinarea K_1 este necesar de a pregăti 3 probe paralele de soluție alcoolică de colesterol cu concentrația 0,1 g/l. La fiecare 0,2 cm³ de soluție se adaugă câte 3,0 cm3 soluție de lucru de clorură de fier, mai departe probele se prelucrează ca și proba de examinat.

$$K_1 = \left[\frac{0,1}{E_1} + \frac{0,1}{E_2} + \frac{0,1}{E_3}\right] : 3$$

În mediu valoarea K_1=1,1.

Pentru determinarea valorii K_2 este necesar de a pregati 3 probe paralele cu soluții alcoolice de acid colic cu concentrația 1 g/l. Mai departe probele se prelucrează ca și probele de examinat:

$$K_2 = \left[\frac{0,1}{E_1} + \frac{0,1}{E_2} + \frac{0,1}{E_3}\right] : 3$$

În mediu valoarea K_2 1,5.

0,07 E_{365} - constituie corecţia influenţei extincţiei acizilor biliari asupra extincţiei colesterolului.

Valori normale. Conţinutul acizilor biliari în bila unui om sanatos: în porţia B - 20,0 ± 8,6 g/l;
în porţia C - 4,6 ± 0,3 g/l.

Conţinutul colesterolului în bilă:
în porţia B - 2,3 ± 0,4 g/l;
în porţia C - 0,5 ± 0,1 g/l.

Coeficientul colato-colesterinic:
în porţia B - 9,0 ± 2,2;
în porţia C - 9,1 ± 2,3.

Aprecierea siguranţei analitice a metodei. Corectitudinea se determină prin adăugarea la proba de

(tabel 8.2).

Tabel 8.2

Componentul cercetat	Componentul adăugat (g/l)	S-a depistat (g/l)
Acizi biliari	100	99,2 ± 1,9, p>0,1
Colesterol	10	99,9 ± 0,4, p>0,1

După cum se vede din tabel deosebirile dintre concentraţia dată şi cea determinată sunt statistic neconcludente.

Notă:

1. Dacă mărimea extincţiei (E_{col}) este mai mică de 0,05 sau mai mare de 0,30 trebuie de micşorat sau de mărit diluţia bilei.
2. Controlul valabilităţii (utilităţii) soluţiei de lucru de clorură de fier se efectuează cu ajutorul soluţiei de acid colic 1 g/l. Pentru aceasta se ia 0,2 cm^3 sol.acid colic şi în conformitate cu compartimentul "Tehnica de lucru" proba se prelucrează şi se măsoară extincţia, valorile căreia trebuie să se afle în limitele 0,65-0,70.
3. Bilirubina în concentraţia de 20 g/l practic nu influenţează asupra rezultatelor determinării colesterolului.
4. Conţinutul acizilor biliari şi a colesterolului variază în limite mari în normă şi în patologie. De aceea determinarea cantităţii lor absolute nu are importanţă diagnostică. Aceşti indici permit de a aprecia starea funcţională a ficatului (debitul acizilor biliari) şi capacitatea de concentrare a vezicii biliare.

Coeficientul colato-colesterinic are o importanţă diagnostică mare. Valorile lui sunt constante în normă şi

pentru procesele inflamatorii din vezica biliară.

BIBLIOGRAFIE

1. Ordinul Ministerului Sănătăţii al Republicii Moldova nr.178 din 27.07.1999 "Despre activitatea serviciului de laborator şi măsurile de perfecţionare".

2. Приказ МЗ СССР № 290 от 11.04.1972 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования"

3. Приказ МЗ СССР № 960 от 15.10.1974 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования"

4. Приказ МЗ СССР № 1175 от 21.11.1979 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования"

5. Инструкция по применению унифицированных клинических методов исследования. Москва, 1986. С.107-133.

6. Приказ МЗ СССР № 1089 от 13.08.1986 г. "Об усилении борьбы с гельминтозами в стране".М. 1986.

7. Приказ МЗ СССР № 20 от 19.01.1987 "Обследование населения на гельминтозы".

8. Методические рекомендации МЗ СССР № 15.6/20 от 19.09.1991.

9. Приказ МЗ СССР № 936 от 12.07.1985 г. "Об унификации клинических лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомониаза". М., 1985.

10. Колб В.Г., Камышников В.С. "Справочник по клинической химии", Минск, Беларусь, 1982 г.

11. "Лабораторные методы исследования в клинике", Справочник. Под ред. Меньшикова В.В., М., Медицина,1987 г.

12. Горячковский А.М. "Справочные пособие по клинической биохимии", Одесса, ОКФА, 1994.

13. Биохимические методы исследования в клинике. Справочник. Под ред. А.А.Покровского. М., 1969. с.383-388.

14. Kondi Vanghel. Laboratorul clinic. Hematologie. Bucurecti. Ed. Med. 1981.

15. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Принципы и методы. Из серии "Библиотека врача- лаборанта" , Москва, 1994 г.

16. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч.1-2. Под ред. М.А.Базарновой - Киев., Вища школа, 1981-1982 г.

MINISTERUL SĂNĂTĂŢII ŞI PROTECŢIEI SOCIALE AL REPUBLICII MOLDOVA



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ORDIN
ПРИКАЗ

„14" 12 2006 Nr. 517

mun.Chişinău

"Despre activitatea serviciului de laborator şi măsurile de perfecţionare"

În scopul perfecţionării activităţii, îmbunătăţirii calităţii şi eficienţei serviciului de laborator din republică,

APROB:

1. Documentele normative ale serviciului de laborator – anexa 1;
2. Nomenclatorul investigaţiilor de laborator folosite în instituţiile medico-sanitare pentru diagnosticul maladiilor şi monitorizarea pacienţilor – anexa 2;
3. Instrucţiuni referitor la folosirea metodelor unificate de cercetări de laborator clinic – anexa 3.

ORDON:

1. Conducătorii Instituţiilor Medico-Sanitare Publice republicane, municipale, raionale, UTA Găgăuzia departamentale şi private:
   - vor organiza activitatea laboratoarelor de diagnostic clinic (LDC) şi a personalului în conformitate cu prezentul ordin;
   - vor asigura participarea sistematică a LDC din instituţii în programele Sistemului Republican de Control Extern al Calităţii Cercetărilor de Laborator;
   - vor asigura verificarea şi atestarea metrologică a utilajului de laborator;
   - vor nominaliza persoana responsabilă pentru dirijarea şi asigurarea controlului intern de calitate a investigaţiilor de laborator.

ABROG:

1. Ordinul Ministerului Sănătăţii RM nr.178 din 27.07.1999: "Despre activitatea serviciului de laborator şi măsurile de perfecţionare".

Controlul asupra executării ordinului în cauză se atribuie D-lui Boris Golovin, viceministru Sănătăţii şi Protecţiei Sociale.

Ion Ababii
Ministru

Ordinul MS Republicii Moldova Nr.158 din 14.06.2000
"Cu privire la organizarea Centrului republican al Controlului extern al Calităţii cercetărilor de laborator".

Conform prevederilor ordinului MS Nr 178 din 27.07.1999 "Despre activitatea serviciului de laborator şi măsurile de perfecţionare", in scopul ridicării calităţii investigaţiilor de laborator, asigurării comparabilităţii rezultatelor, obţinute în laboratoarele de diagnostic clinic din diferite instituţii medicale, creşterii eficienţei serviciului de laborator:

ORDON:

1.A institui Centrul Republican al Controlului Extern al Calităţii cercetărilor de laborator pe baza laboratorului de diagnostic clinic al Spitalului Clinic Municipal de copii "V.Ignatenco" (medic-şef dnul Garbuz I.) în limitele structurii şi listei de state a subdiviziunii menţionate.

2.A numi director al Centrului pe d-na Caragia Svetlana, sefa de laborator în spitalul clinic municipal de copii "V.Ignatenco", director adjunct pe d-na Jucova Elena, medic de laborator în SCR Nr.1.

3.Centrul va funcţiona pe bază de autogestiune.

4.Centrul Republican al Controlului Extern al Calităţii (Caragia Svetlana, Jucova Elena):

- a elabora în termen de 3 luni şi prezenta pentru aprobare Regulamentul de activitate şi calculul sinecostului controlului calităţii pentru fiecare tip de investigaţii de laborator;
- a efectua analiza sistematică şi generalizată a rezultatelor obţinute, a înainta recomandări pentru perfecţionarea activităţii laboratoarelor pe baza aprecierii calităţii lucrului efectuat.

5. Directorilor Direcţiilor Sănătăţii Judetene, UTA Gagauz-Yeri, Departamentului Sănătăţii Primăriei municipiului Chişinău, conducătorilor instituţiilor medicale republicane a asigura participarea sistematică a laboratoarelor de diagnostic clinic subordonate, indifirent de forma de proprie-tate, la programele controlului de calitate extern al investigaţiilor de laborator.

5.1. A recomanda conducătorilor instituţiilor medicale departamentale participarea la măsurile controlului extern al calităţii în laboratoarele de diagnostic clinic subordonate.

6. Controlul asupra îndeplinirii prezentului ordin se asumă prim vice ministrului dlui O.Rusu.

Ministru V.Parasca

Ordinul MS Republicii Moldova Nr. 256 din 28.09.2000
" Cu privire la controlul calității investigațiilor de laborator clinic"

În scopul ameliorării calității investigațiilor de laborator, ridicării nivelului de cunoștințe a lucrătorilor în domeniul controlului de calitate și recunoașterii oficiale a competenței tehnice a laboratoarelor de diagnostic clinic din republică, conform prevederilor ordinelor Nr.26 din 27.01.1998 "Cu privire la acreditarea laboratoarelor de diagnostic clinic" și Nr 178 din 27.07.1999 "Despre activitatea serviciului de laborator și măsurile de perfecționare":

APROB:

1.Formularul de înregistrare a participantului la programul Sistemului Național de Control Extern al Calității Cercetărilor de Laborator (anexa 1).

2.Certificatul despre participarea Laboratorului de Diagnostic Clinic la Sistemul Național de Control Extern al Calității Cercetărilor de Laborator (anexa 2).

3. Componența Comisiei de Acreditare a laboratoarelor de diagnostic clinic (anexa 3).

O R D O N:

1.Directorilor Direcțiilor Sănătății Județene, UTA Gagauz-Yeri, Departamentului Sănătății municipiului Chișinău, conducătorilor instituțiilor medicale republicane, departamentale și particulare a asigura participarea laboratoarelor de diagnostic clinic subordonate la programele Sistemului Național de Control Extern al Calității Cercetărilor de Laborator (SNCEC).

2. Conducătorilor instituțiilor medicale a căror LDC vor participa la programele SNCEC vor asigura achitarea costului pentru participare conform devizului de cheltuieli pe contul Centrului Republican de Control Extern al Calității cercetărilor de laborator.

3. Centrului Republican de Control Extern al Calității cercetărilor de Laborator (Dna Svetlana Carajia):

- a asigura realizarea programelor SNCEC;
- a efectua analiza sistematică și generalizată a rezultatelor obținute;
- a înainta recomandări pentru perfecționarea activității laboratoarelor.

4. Se abrogă anexa 2 la ordinul Nr.26 din 27.01.1998 "Cu privire la acreditarea laboratoarelor de diagnostic clinic".

5. Controlul îndeplinirii prezentului ordin se asumă șefului DPS și U dnul L.Vove.

Ministru V. Parasca

Anexa 1

FORMULARUL DE ÎNREGISTRARE
al participantului la Sistemul Național de Control Extern
al Calității cercetărilor de laborator (SNCEC) în anul 200__

Denumirea laboratorului ____
1. N.P. șefului de laborator ____
tel ____________________
2. Adresa și denumirea instituției medicale ____
3. Adresa laboratorului (în caz când laboratorul nu este în cadrul unei instituții)
____
____ tel ____________________
4. Adresa, N.P.persoanei, pe numele căruia se vor expedia materialele de control :
____

Formularul de înregistrare se expediază pe adresa :
2019 Chișinău str.Grenoble 149
Centrul Republican de Control Extern al Calității cercetărilor de laborator
Telefoanele de contact :
725 777 S.Caragia
728 718 E.Jucova

Anexa 2

Ministerul Sănătății al Republicii Moldova
Centrul Republican de Control Extern al Calității Cercetărilor de Laborator

SISTEMUL NAȚIONAL DE CONTROL EXTERN
AL CALITĂȚII CERCETĂRILOR DE LABORATOR

C E R T I F I C A T

Prin care se confirmă, că Laboratorul de Diagnostic Clinic ____________________
____
____
(denumirea instituției medicale)
a participat la programul Sistemului Național de Control Extern al Calității cercetărilor de laborator efectuată în trimestrul ______ 200__
testând următoarele tipuri de investigații :
____
____
____
____

Directorul Centrului Republican
de Control Extern al Calității
cercetărilor de laborator, Dr.biol
__________________ S.Caragia

Specialistul principal în
diagnosticul de laborator al MS,
DHȘM, profesor universitar
__________________ V.Gudumac

Regulamentul cu privire la gestionarea deşeurilor medicale. Cerinţe şi norme igienice şi sanitare

(Anexa nr.2 la Hotărîrea Colegiului MS RM din 26.06.2001)

Obiective şi domenii de aplicare.

1.1. Obiectivul normelor tehnice privind gestionarea deşeurilor rezultate din activităţile medicale este reglementarea modului în care se colectează, ambalează, depozitează temporar, transportă şi neutralizează aceste deşeuri. O atenţie deosebită se acordă deşeurilor periculoase, pentru a preveni afectarea sănătăţii omului şi pentru a preveni contaminarea mediului.

1.1. Normele se aplică de către orice persoană fizică sau juridică ce desfăşoară activităţi medicale cu producere de deşeuri. Producătorii de deşeuri sunt răspunzători de corecta îndepărtare şi neutralizare a deşeurilor produse, fie în instalaţiile proprii, fie prin contractarea serviciilor de transport şi neutralizare cu utilaj sau persoane juridice autorizate. Producătorii de deşeuri vor identifica resursele financiare necesare gestionării corecte a deşeurilor periculoase rezultate din activitatea lor, pînă la neutralizarea finală. Unităţile medicale vor elabora şi aplica cu prioritate strategii de management şi proceduri medicale care să prevină producerea de deşeuri periculoase sau să reducă pe cît posibil cantităţile produse. Unităţile medicale vor elabora şi aplica planul de gestionare a deşeurilor rezultate din activităţile medicale, cu regulamente interne şi codurile de procedură.

1.2. Responsabilităţile tuturor participanţilor implicaţi la toate nivelurile sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase trebuie să fie foarte bine precizate în documentele interne ale unităţii (regulamente, coduri de procedură) şi să acopere printre altele:

- necesitatea diminuării cantităţii de deşeuri de neutralizarea încă din etapa de producere, prin toate mijloacele disponibile;
- necesitatea reutilizării şi reciclării acelor categorii de deşeuri care se prestează la aceste operaţiuni;
- necesitatea separării la sursă a deşeurilor periculoase de cele nepericuloase;
- necesitatea reducerii costului total al eliminării deşeurilor periculoase, prin găsirea unui raport optim cost-beneficiu legal de utilizarea materialelor de unică folosinţă.

1.3. Prezentele norme se vor aplica în toate unităţile medicale care produc deşeuri, şi anume:

1.3.1. producătorii mari:

- spitale republicane, judeţene şi municipale;
- clinicele universitare;
- institutele de cercetare medicală;
- institutele de medicină legală;
- serviciile judeţene de medicină legală;
- catedrele preclinice din universităţile şi facultăţile de medicină şi farmacie;
- unităţile de producţie, depozitarea şi păstrare a medicamentelor şi a produselor biologice.

1.3.2. producătorii medii:

- dispensarele, policlinici;
- centrele de transfuzii;
- centrele de recoltare şi conservarea a sîngelui;
- laboratoarele microbiologice şi clinice;
- serviciile de prosectură ale spitalelor;
- casele de naşteri;
- sanatorii antituberculoase şi preventorii;
- cabinetele medicale de orice specialitate şi cabinetele stomatologice;
- spitalele şi clinicele particulare.

1.3.3. producătorii mici:

- laboratoarele de tehnică dentară;
- spitalele de bolnavi psihici cronici;

- spitalele de recuperare;
- bazele de tratament balnear;
- săli de pregătire a cadavrelor din cadrul serviciilor funerare;
- creșele și leagănele pentru copii;
- casele de bătrîni;
- unitățile farmaceutice;
- centrele de optică medicală;
- centrele de acupunctură;
- depozite farmaceutice;
- CMP;
- unitățile de medicină privată.

2. Definiții

Semnificația unor termeni folosiți în prezentele norme tehnice este următoarea:

2.1 ***„deșeurile rezultate din activități medicale"*** sunt toate deșeurile, periculoase sau nepericuloase, care se produc în unitățile medicale;

2.2 ***„deșeuri periculoase"*** sunt deșeuri rezultate din activități medicale care prezintă un risc real pentru sănătatea umană și pentru mediu în care sunt generate în cursul activităților de diagnostic, tratament, supraveghere, prevenția bolilor și recuperare medicală, inclusiv cercetarea medicală și producerea, testarea, depozitarea și distribuirea medicamentelor și produselor biologice;

2.3 ***„deșeuri asimilabile cu cele menajere"*** sunt deșeuri nepericuloase a căror compoziție este asemănătoare cu cea a deșeurilor menajere municipale și care nu prezintă risc major pentru sănătatea umană și mediu;

2.4 ***„deșeuri anatomo-patologice și părți (piese) anatomice"*** sunt deșeuri care includ țesuturile și organele, părțile anatomice rezultate din actele chirurgicele, din autopsii și din alte proceduri medicale; în această categorie se includ și animalele de laborator utilizate în activitatea de diagnostic, cercetare și experimentare;

2.5 ***„deșeuri infecțioase"*** sunt deșeurile lichide și solide care conțin sau sunt contaminate cu sînge sau alte fluide biologice, precum și materialele care conțin sau au venit în contact cu virusuri, bacterii, paraziți și/sau toxinele microorganismelor;

2.6 ***„deșeuri chimice și farmaceutice"*** sunt reprezentate de substanțele chimice solide, lichide sau gazoase, care pot fi toxice, corozive sau inflamabile, medicamentele expirate sau rezidările de substanțe chimoterapice, care pot fi citotoxine, genotoxine, mutagene, teratogene sau carcinogene.

2.7 ***„deșeuri înțepătoare-tăietoare"*** sau deșeuri care pot produce leziuni mecanice prin înțepare sau tăiere;

2.8 ***„deșeuri radioactive"*** sunt deșeuri solide, lichide sau gazoase rezultate din activitățile nucleare medicale, de diagnostic și tratament, care conțin materiale radioactive;

2.9 ***„sistemul de gestionare a deșeurilor"*** reprezintă totalitatea activităților de colectare separată la sursă, ambalare, depozitare intermediară, precum și transportul și neutralizarea finală;

2.10 ***„depozitarea temporară"*** este păstrarea pe o perioadă limitată de timp a deșeurilor ambalate corespunzător, în spații special amenajate, pînă la preluarea și transportarea lor pentru neutralizarea lor finală;

2.11 ***„neutralizarea finală"*** reprezintă totalitatea tratamentelor aplicate deșeurilor periculoase rezultate din activitățile medicale care vizează eliminarea pericolelor și riscurilor potențiale asupra mediului și asupra stării de sănătate a populației;

2.12 ***„incinerarea deșeurilor"*** este arderea deșeurilor în instalații speciale, denumite incineratoare, cu asigurarea temperaturii de denocivizare a deșeurilor și cu utilizarea tehnologiilor de reținere și purificare a gazelor;

2.13 ***„depozitarea sanitară"*** este neutralizarea deșeurilor prin depozitarea acestora în locuri special amenajate, anume rampele de depozitare controlată;

2.14 ***„producătorul de deşeuri din activităţile medicale"*** este orice persoană fizică sau juridică a cărei activitate produce deşeuri care se încadrează în categoriile enumerate în pct. 3 Clasificări; producătorul este răspunzător de corecta îndepărtare şi neutralizare finală a acestora;

2.15 ***„fişa internă a gestiunii deşeurilor"*** este formularul pe care se ţine evidenţa deşeurilor produse în unităţile medicale, cu date privind circuitul complet al deşeurilor de la producere şi pînă la neutralizarea finală a acestora, conform Hotărârii de Guvern nr.606 din 28.06.2000.

3. Clasificări

3.1. Clasificarea pe categorii a deşeurilor rezultate din activitatea medicală se face pe criterii practice după cum urmează:

3.1.1. **deşeuri nepericuloase**: sunt deşeurile asimilabile cu cele menajere rezultate de la serviciile medicale, tehnico-medicale, administrative, de cazare, de la blocurile alimentare şi de la oficiile de distribuire a hranei; aceste deşeuri se colectează şi se îndepărtează la fel ca cele menajere. Deşeurile asimilabile cu cele menajere încetează de a fi nepericuloase arunci cînd sunt amestecate cu o cantitate oarecare de deşeuri periculoase. Următoarele materiale se includ în categoria deşeurilor nepericuloase: ambalajele materialelor sterile, flacoane de perfuzie care nu au venit în contact cu sîngele sau alte lichide biologice, ghips necontaminat cu lichide biologice, hârtie, resturi alimentare (cu excepţia celor provenite de la secţiile de boli contagioase), saci sau alte ambalaje din material plastic, recipienţi din sticlă care nu au venit în contact cu sîngele sau cu alte lichide biologice;

3.1.2. **deşeuri periculoase:** acestea la rîndul lor se clasifică în:

3.1.2.1. **deşeuri anatomo-patologice şi părţi anatomice** cuprind părţi anatomice, material biologic rezultat din blocurile operatorii de chirurgie şi obstetrică (fetuşi, placente), părţi anatomice rezultate din laboratoarele de autopsie, cadavre de animale rezultate în urma activităţilor de cercetare şi experimentare. Toate aceste deşeuri se consideră infecţioase, conform Precauţiunilor Universale;

3.1.2.2. **deşeuri infecţioase** sunt deşeuri care conţin sau au venit în contact cu sîngele sau alte lichide biologice, precum şi cu virusuri, bacterii, paraziţi şi/sau toxinele microorganismelor. Exemple: seringi, ace, ace cu fir, catetere, perfuzoare cu tubulatură, recipienţi care au conţinut sînge sau alte lichide biologice, câmpuri operatorii, mănuşi, sonde sau alte materiale de unică folosinţă, comprese, pansamente şi alte materiale contaminate, membrane de dializă, pungi de material plastic pentru colectarea urinei, materiale de laborator folosite. Deşeurile infecţioase care sunt în acelaşi timp tăietoare-înţepătoare se colectează în cutii rezistente cu marcaj specific pentru deşeurile infecţioase;

3.1.2.3. **deşeuri înţepătoare-tăietoare** cuprind ace, ace cu fir, catetere, seringi cu ac, perfuzoare, lame de bisturiu de unică folosinţă, pipete, sticlărie de laborator sau altă sticlărie spartă sau nu, care au venit în contact cu materialul infectat. Aceste deşeuri se consideră infecţioase conform Precauţiunilor Universale;

3.1.2.4. **deşeuri chimice şi farmaceutice** sunt deşeuri care includ serurile şi vaccinurile cu termen de valabilitate depăşit, medicamente expirate, reziduurile de substanţe chimioterapice, reactivi şi substanţe folosite în laborator. Substanţele de curăţire şi dezinfecţie deteriorate ca urmare a depozitării lor necorespunzătoare sau cu termen de valabilitate depăşit, vor fi considerate deşeuri chimice. Exemple: substanţe dezinfectante, substanţe tensioactive, etc. se nimicesc conform cerinţelor ordinului MS nr.42 din 21.02.01 „Cu privire la nimicirea inofensivă a medicamentelor cu termen de valabilitate expirat sau cu dificienţe de calitate";

3.1.2.5. **deşeurile radioactive** sunt gestionate, în ţara noastră conform „Normelor Republicane de Securitate Nucleară, regimul de lucru cu surse radioactive". Supravegherea şi controlul gestionării lor sunt asigurate conform Normelor fundamentale de radioprotecţie, Cerinţe şi reguli igienice (NFRP-2000). Supravegherea gestionării lor sunt asigurate de centrul de radioprotecţie şi igiena radiaţiilor CNŞPMP, CMP judeţene, UTA Găgăuzia, serviciul de radioprotecţie departamental pe lîngă Institutul Oncologic, şi peroanele responsabile de radioprotecţie şi siguranţa surselor ionizante a instituţiilor medicale.

3.2. Materialele folosite în practica medicală care se pretează la recuperare, refolosire şi reciclare trebuie supuse procesului de sterilizare. Sticlăria şi instrumentele utilizate la efectuarea analizelor copro-

logice vor fi sterilizate prin autoclavare. Laboratorul de microbiologie şi alte tipuri de laboratoare care lucrează cu produse biologice pentru diagnostic trebuie să aibă obligatoriu încăperi de spălare şi sterilizare a sticlăriei folosite.

4. Colectarea la sursă

4.1. Colectarea şi trierea pe categorii de deşeuri este prima etapă în gestionarea deşeurilor periculoase rezultate din activitatea medicală. Producătorul este responsabil pentru corectitudinea separării la sursă pe categorii a deşeurilor. Atunci cînd nu se respectă acest lucru, întreaga cantitate de deşeuri se tratează ca deşeuri periculoase.

4.2. ***Ambalarea deşeurilor***
Ambalajul în care se va face colectarea şi care vine în contact direct cu deşeurile periculoase trebuie să fie de unică folosinţă şi se va neutraliza odată cu conţinutul.

4.2.1. Codurile de culori ale ambalajelor în care se colectează deşeurile din instituţiile medicale sunt:
- galben – pentru deşeurile infecţioase şi tăietoare-înţepătoare;
- negru – pentru deşeurile asimilabile cu cele menajere.

4.2.2. Pentru deşeurile infecţioase şi tăietoare-înţepătoare se foloseşte pictograma „pericol biologic". Pentru deşeurile chimice şi farmaceutice se folosesc pictogramele adecvate pericolului: inflamabil, coroziv, toxic, radioactive, etc.

4.2.3. Colectarea deşeurilor tăietoare-înţepătoare trebuie făcută în cutii cu pereţii rezistenţi la acţiunile mecanice. Aceste cutii trebuie prevăzute cu capac special care să permită introducerea deşeurilor şi să împiedice scoaterea acestora după umplere, avînd pentru aceasta un sistem de închidere definitivă. Materialul din care se confecţionează aceste cutii trebuie să permită incinerarea cu riscuri minime pentru mediu. Cutiile se marchează cu galben şi, eventual, cu pictograma "pericol biologic", deoarece conţin deşeuri care sunt în acelaşi timp tăietoare-înţepătoare şi infecţioase.

4.2.4. Pentru deşeurile periculoase se vor folosi saci de polietilenă galbeni sau marcaţi cu galben şi, eventual, cu pictograma „pericol biologic". Sacii trebuie să fie confecţionaţi din polietilenă de înaltă densitate pentru a avea rezistenţă mecanică mare, termosudurile trebuie să fie continue, rezistente şi să nu permită scurgeri de lichid. Sacul trebuie să se poată închide uşor şi sigur. La alegerea dimensiunii sacului se ţine seama de cantitatea de deşeuri produse în intervalul de timp dintre două îndepărtări succesive ale deşeurilor. Sacul se introduce în pubele previente cu capac şi pedală sau în port-sac. Înălţimea sacului trebuie să depăşească înălţimea pubelei astfel încît sacul să se răsfrîngă peste marginea superioară a acestuia. Surplusul de sac este folosit pentru închiderea sacului atunci cînd gradul de umplere a acestuia depăşeşte două treimi din volumul său.

4.2.5. Pentru deşeurile infecţioase de laborator se pot folosi, în locul sacilor de polietilenă, cutii de carton rigide căptuşite cu polietilenă, marcate cu galben şi, eventual, cu pictograma „pericol biologic".

4.2.6. Al doilea ambalaj, în care se depun sacii şi cutiile pentru deşeuri periculoase, este reprezentat de containere mobile cu pereţi rigizi, aflate în spaţiul de depozitare temporară. Containerele pentru deşeuri infecţioase ţi înţepătoare- tăietoare au marcaj galben, sunt inscripţionate cu „deşeuri medicale" şi poartă pictograma „pericol biologic". Containerele trebuie confecţionate din materiale rezistente la acţiunile mecanice, uşor lavabile şi rezistente la soluţii dezinfectante. Containerul trebuie să fie etanş şi prevăzut cu un sistem de prindere adaptat sistemului automat de preluare din vehiculul de transport sau adaptat sistemului de golire în incinerator. Dimensiunea containerului se alege astfel încît să se asigure preluarea întregii cantităţi de deşeuri produsă în intervalul dintre două îndepărtări succesive. În aceste containere nu se depun deşeuri periculoase neambalate (vrac) şi nici deşeuri asimilabile cu cele menajere.

4.2.7. Părţile anatomice destinate incinerării vor fi colectate obligatoriu în saci de polietilenă cu marcaj galben, special destinaţi acestei categorii de deşeuri. Aceşti saci trebuie să fie perfect etanşi pentru a nu permite scurgeri de lichide biologice. În cazul recuperării placentelor, acestea vor fi ambalate şi supuse dezinfecţiei în conformitate cu cerinţele beneficiarului. Placentele rămase nerecuperate vor urma filiera de neutralizare a deşeurilor anatomice şi anatomo-patologice.

4.2.8. În cazul înhumării în cimitire, părţile anatomice vor fi ambalate şi refrigerate, după care se vor depune în cutii speciale, etanşe şi rezistente. Aceste cutii vor fi marcate corespunzător, iar unitatea medicală va fi obloigată să întocmească un registru cu evidenţa lor zilnică.

4.2.9. Animalele de laborator vor urma filiera de neutralizare a deşeurilor periculoase, chiar şi după autoclavare.

4.2.10. Deşeurile chimice şi farmaceutice se colectează în recipiente speciale. Cu marcaj adecvat pericolului (inflamabil, coroziv, toxic, etc.). Ele se îndepărtează pe filiera deşeurilor chimice periculoase.

4.2.11. Deşeurile asimilare cu cele menajere se colectează în saci de polietilenă de culoare neagră, în lipsa acestora se acceptă şi folosirea de saci de polietilenă transparenţi şi incolori.

4.2.12. Pe ambalaje care conţin deşeuri periculoase se lipesc etichete autocolante cu datele de identificare ale secţiei sau laboratorului care a produs deşeurile (numele secţiei sau laboratorului şi data). În cazul în care nu există etichete autocolante datele respective se vor scrie cu marker rezistent la apă pe sacul gol sau pe cutie.

5. Depozitarea temporară

5.1. Depozitarea temporară este păstrarea pe o perioadă limitată a deşeurilor ambalate pînă la prelucrarea şi transportul lor la neutralizarea finală. Depozitarea temporară trebuie realizată în funcţie de categoriile de deşeuri colectate la sursă. Se interzice accesul persoanelor neautorizate în încăperile destinate depozitării temporare.

5.2. Durata depozitării temporare va fi cît mai scurtă posibil, iar condiţiile de depozitare vor respecta normele de igienă în vigoare. O filieră ideală pentru deşeurile periculoase nu trebuie să depăşească 72 de ore, din care 48 de ore în incinta unităţii şi 24 ore pentru transport şi neutralizare.

5.3. Spaţiul de depozitare temporară trebuie să existe obligatoriu în fiecare unitate de îngrijire medicală. În unităţile în care acest spaţiu nu a fost special prevăzut în proiectul iniţial al construcţiei este necesar ca acesta să fie amenajat ulterior. Procesul de amenajare al acestui spaţiu trebuie să fie avizat de Centrele de Medicină Preventivă teritoriale.

5.4. Spaţiul de depozitare temporară trebuie să aibă două compartimente:

- un compartiment pentru deşeurile periculoase, prevăzut cu dispozitive de închidere încât să se permită numai accesul persoanelor autorizate;
- un compartiment pentru deşeurile asimilabile cu cele menajere, amenajat conform cu cerinţele stipulate în normele de igienă în vigoare.

5.5. Condiţiile spaţiului de depozitare pentru deşeuri periculoase trebuie să permită depozitarea temporară a cantităţii de deşeuri periculoase acumulate în perioada de timp dintre două îndepărtări succesive a acestora. Spaţiul de depozitare a deşeurilor periculoase fiind o zonă cu potenţial septic, trebuie separat funcţional de restul construcţiei şi asigurat prin sisteme de închidere. Încăperea trebuie prevăzută cu sifon de pardoseală pentru evacuarea în reţeaua de canalizare a apelor uzate rezultate în urma curăţirii şi dezinfecţiei. Spaţiul trebuie prevăzut ventilaţie corespunzătoare pentru asigurarea temperaturilor scăzute, care nu permit descompunerea materialului organic din compoziţia deşeurilor periculoase.

5.6. Deşeurile asimilabile cu cele menajere se depozitează şi se evacuează conform prevederilor normelor de igienă privitoare la mediul de viaţă a populaţiei.

6. Transportul

6.1. Transportul deşeurilor periculoase pînă la locul de neutralizare se face cu respectarea strictă a normelor de igienă şi securitate în scopul protejării personalului şi populaţiei generale. Transportul deşeurilor periculoase pe drumurile publice spre locul de neutralizare se face pe rute autorizate de către Centrele de Medicină Preventivă.

6.2. Vehiculul care transportă deşeurile periculoase trebuie conceput, amenajat special şi autorizat pentru transportul deşeurilor periculoase, în conformitate cu regulamentele în vigoare ale Ministerului Transporturilor. Conducătorul auto trebuie format profesional şi informat cu privire la natura încărcăturii

şi la precauţiunile legate de transportul acestuia.

6.3. Pentru a realiza un transport sigur, vehiculul care transportă deşeurile periculoase trebuie să răspundă următoarelor cerinţe:

- compartimentul destinat containerelor să fie separat de cabina şoferului şi realizat din materiale uşor lavabile şi rezistente la agenţi chimici folosiţi la dezinfecţie;
- să aibă dispozitive de fixare a containerelor în timpul transportului;
- să fie utilat cu sisteme etanşe de închidere a uşilor compartimentului destinat containerelor, pentru a evita pierderile, de orice fel, din timpul transportului;
- să conţină sisteme de asigurare împotriva răspîndirii deşeurilor periculoase în mediu în caz de accident.

6.4. După ce se golesc, containerele se vor spăla şi dezinfecta în locul unde se descarcă deşeurile (incinerator sau rampă de depozitare controlată).

6.5. Dacă instalaţia de incinerare se află în incinta unităţii transportul deşeurilor periculoase se va face pe un circuit separat de cel al pacienţilor şi vizitatorilor.

7. Neutralizarea

7.1. Unităţile medicale trebuie să se asigure că deşeurile periculoase pe care le produc vor fi neutralizate corect, specific fiecărei categorii de deşeuri, prin procedee autorizate şi cu eficacitate dovedită. Metodele de neutralizare trebuie să asigure distrugerea rapidă şi completă a factorilor cu potenţial nociv pentru mediu şi pentru starea de sănătate a populaţiei.

7.2. Deşeurile asimilabile cu cele menajere nu necesită tratamente speciale şi se vor include în ciclul de eliminare a deşeurilor municipale. Excepţie vor face resturile alimentare provenite din spitalele de boli contagioase, care necesită autoclavare înainte de a fi preluate de serviciile de salubritate.

7.3. Incineratoarele pentru deşeuri de spital sunt fie individuale, fie colective. Incineratoarele colective deservesc mai multe unităţi din zonă, iar producătorii trebuie să asigure transportul deşeurilor lor la aceste incineratoare în condiţii de igienă şi securitate.

7.4. Incineratoarele trebuie să respecte normele şi standardele în vigoare privind emisiile de gaze în atmosferă şi pe cele privitoare la produsele secundare rezultate din procesul de incinerare şi din procesele de reţinere şi purificare a gazelor (cenuşa zburătoare, zgura, ape reziduale). Aceste produse vor fi colectate şi îndepărtate în aşa fel încât să nu polueze mediul.

7.5. Instalaţiile de incinerare trebuie prevăzute cu sisteme automate de golire a containerelor. Aceste sisteme trebuie să fie adaptate sistemelor de închidere a containerelor.

7.6. Depozitarea sanitară constituie o altă alternativă de neutralizare a deşeurilor provenite din activităţile medicale. Deşeurile periculoase se trimit la rampa de depozitare controlată numai după aplicarea tratamentelor de denocivizare (sterilizare, dezinfectare etc.).

7.7. Depozitarea deşeurilor se face în locuri special amenajate numite rampe de depozitare controlată. Construirea unor astfel de rampe impune luarea unor măsuri speciale de impermeabilizare pentru respectare condiţiilor de igienă şi protecţie a mediului. Rampa de depozitare controlată trebuie să fie supravegheată pentru a nu permite accesul persoanelor care nu sunt implicate în gestionarea deşeurilor. În situaţia în care depozitarea deşeurilor medicale se va face pe rampa municipală trebuie să se prevadă o zonă special destinată acestei categorii de deşeuri. În această zonă deşeurile medicale se acoperă obligatoriu cu un strat de minim 2 metri de deşeuri menajere şi pămînt din considerente de securitate.

7.8. O atenţie deosebită trebuie să fie acordată modului de depozitare pe rampă a deşeurilor cu risc infecţios. Pentru această categorie de deşeuri sunt interzise procedeele de compactare după depunerea pe rampă. După compactare creşte considerabil riscul de contaminare a factorilor de mediu (apă, aer, sol).

8. Evidenţa cantităţilor de deşeuri produse de unitatea medicală

8.1. Cunoaşterea cantităţii de deşeuri produse este obligaţia fiecărui producător. Datorită modului de îndepărtare şi neutralizare specifice deşeurile periculoase nu pot fi cînărite zilnic, de aceea se aplică metodologia de investigaţie-sondaj pentru culegerea periodică şi pentru calcularea cantităţii medii lunare.

9. Înregistrarea datelor privind deşeurile periculoase predate contractanţilor pentru transport şi neutralizare

9.1. Investigarea datelor reprezintă modul de ţinere sub control filierei producere-transport, neutralizare de către producători. Ea se realizează obligatoriu prin formularul de identificare pentru transport şi neutralizare ale deşeurilor periculoase care părăsesc unitatea producătoare în scopul neutralizării, formularul aflat în Anexa 2. Formularul de identificare pentru transport şi neutralizare se completează şi se semnează în trei exemplare de către producător şi transportator şi predarea/primirea pentru transport. Un exemplar rămîne la producător, iar celelalte două exemplare se semnează de către agentul economic care efectuează operaţia de neutralizare. După neutralizarea finală un exemplar rămîne la agentul economic care a efectuat operaţia de neutralizare, iar al treilea exemplar se returnează prin poştă la producător de către agentul economic care a făcut neutralizare.

9.2. Formularul de identificare pentru transport şi neutralizare conţine următoarele date:

- datele de identificare pentru unitatea producătoare şi pentru agenţii economici prestatori de servicii de transport şi neutralizare;
- cantitatea de deşeuri periculoase trimise, transportate şi neutralizate;
- data şi ora pentru fiecare etapă din filieră (predare/primire pentru transport predare/primire la agentul economic care va face neutralizarea, neutralizare);
- numele şi semnăturile responsabililor pentru fiecare etapă din filieră, din partea producătorului şi din partea prestatorului de servicii care au primit/predat deşeurile şi au aplicat procedeul de neutralizare stipulat în contract;
- procedura de neutralizare utilizată.

9.3. Cantităţile generate de micii producători, dacă sunt sub 25 kg lunar, nu vor trebui să fie însoţite de formularul de identificare pentru transport şi neutralizare, dar vor fi supuse aceloraşi cerinţe privind modul de ambalare şi neutralizare.

10. Educarea şi formarea personalului

10.1. Pentru aplicarea prezentului Regulament se instituie sistemul de formare profesională în domeniu, astfel: Centrul Naţional Ştiinţifico-Practic de Medicină Preventivă organizează cursuri de perfecţionare cu specialiştii din Centrele de Medicină Preventivă judeţene, conducătorii CMP judeţene organizează cursuri cu personalul responsabil pentru formarea profesională din unităţile medicale; unităţile medicale organizează cursuri cu propriul personal medical şi auxiliar.

10.2. Educarea şi formarea personalului constituie o etapă importantă în introducerea şi funcţionarea sistemului corect de gestionare a deşeurilor în unitatea medicală.

10.3. Producătorii de deşeuri periculoase sunt obligaţi să identifice care sunt cunoştinţele şi competenţele utile persoanelor implicate în gestionarea deşeurilor, conform planului de gestionare a deşeurilor rezultate din activităţile medicale, cu regulamentele interne şi codurile de procedură aferente. Aceste informaţii vor fi luate în consideraţie la recrutarea personalului şi la organizarea cursurilor de formare continuă.

10.4. Unitatea este obligată să asigure educarea şi formarea profesională continuă pentru angajaţi, în următoarele situaţii:

- la angajare;
- la preluarea unei noi sarcini de serviciu sau la trecerea pe alt post;
- la introducerea de echipamente noi sau la modificarea echipamentelor existente;
- la introducerea de tehnologii noi;
- la recomandarea medicului epidemiolog de spital sau a medicului delegat cu responsabilităţi în prevenirea şi combaterea infecţiilor nozocomiale care a constatat nereguli în aplicarea codului de proceduri;
- periodic, indiferent dacă au survenit schimbări sau nu în sistemul de gestionare a deşeurilor.

Perioada dintre două cursuri va fi stabilită de medicul epidemiolog de spital sau medicul delegat cu responsabilităţi în prevenirea şi combaterea infecţiilor nozocomiale, dar nu va depăşi 12 luni.

10.5. Personalul implicat în sistemul de gestionare a deşeurilor periculoase trebuie să cunoască:
- tipul şi cantitatea de deşeuri produse în unitate;
- riscurile pentru mediu şi sănătatea umană la fiecare etapă a filierei de eliminare a deşeurilor;
- planul de gestionare a deşeurilor rezultate din activităţile medicale, cu regulamentele interne şi codurile de procedură pentru colectarea, depozitarea, transportul şi neutralizarea deşeurilor periculoase.

11. Responsabilităţi în domeniul gestionării deşeurilor rezultate din activităţile medicale

11.1. Directorul unităţii sau coordonatorul unităţii medicale sau directorul econom:
- iniţiază programul de introducere a sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase;
- prevede fondurile necesare pentru asigurarea funcţionării sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase;
- nominalizează persoanele responsabile cu activităţile specifice sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase;
- controlează modul în care funcţionează sistemul de gestionare a deşeurilor periculoase;
- aprobă planul de gestionare a deşeurilor din activităţile medicale, pe baza regulamentelor interne şi a codurilor de procedură ale sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase din unitate;
- aprobă planul de formare profesională continuă.

11.2. Medicul epidemiolog de spital sau medicul delegat cu responsabilităţi în prevenirea şi combaterea infecţiilor nozocomiale:
- elaborează şi supune spre aprobare conducerii planul de gestionare a deşeurilor rezultate din activităţile medicale, pe baza regulamentelor interne şi a codurilor de procedură pentru colectarea, depozitarea, transportul şi neutralizarea deşeurilor periculoase;
- stabileşte codul de procedură a sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase;
- răspunde de buna funcţionarea sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase;
- supraveghează activitatea personalului implicat în gestionarea deşeurilor periculoase;
- răspunde de educarea şi formarea continuă a personalului;
- elaborează şi aplică planul de educare şi formare continuă;
- coordonează investigaţii-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse pe tipuri de deşeuri, completării bazei de date naţionale şi a evidenţii gestiunii deşeurilor; în acest sens are toate atribuţiile investigatorului şef;
- propune directorului unităţii agentul economic prestator de servicii de transport şi neutralizare a deşeurilor.

11.3. Şeful serviciului administrativ:
- asigură şi răspunde de aprovizionarea unităţii cu materiale necesare sistemului de gestionare a deşeurilor periculoase;
- asigură şi răspunde de întreţinerea instalaţiilor de neutralizare din incinta unităţii;
- controlează respectarea codurilor tehnice stipulate în contractul încheiat cu agentul economic care presteează activităţile de transport şi neutralizare a deşeurilor periculoase.

11.4. Medicul şef de secţie:
controlează modul în care se aplică codul de procedură stabilit pe secţie;
- participă la realizarea investigaţiei-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse de tipuri de deşeuri, în vederea completării bazei de date naţionale şi a evidenţei gestionare a deşeurilor;
- semnalează imediat directorul adjunct economic şi şeful serviciului administrativ deficienţe în sistemul de gestionare a deşeurilor.

11.5. Medicul care îşi desfăşoară activitatea în sistemul public sau privat, în spital, sau, după caz, ca medic de familie, medic de întreprindere, medic al şcolii, medic stomatolog, medicul unităţii militare, medicul penitenciarului:
- supraveghează modul în care se aplică codul de procedură stabilit în sectorul lui de activitate;
- aplică procedurile stipulate de codul de procedură;

- aplică metodologia de investigaţie-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse de tipuri de deşeuri, în vederea completării bazei de date naţionale şi a evidenţei gestiunii deşeurilor.

11.6. Asistenta şefă:

- răspunde de aplicarea codului de procedură;
- prezintă medicului şef de secţie sau coordonator planificarea necesarului de materiale pentru sistemul de gestionare a deşeurilor periculoase;
- aplică metodologia de investigaţie-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse de tipuri de deşeuri, în vederea completării bazei de date naţionale şi a evidenţei gestiunii deşeurilor.

11.7. Asistenta:

- aplică procedurile stipulate de codul de procedură;
- aplică metodologia de investigaţie-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse de tipuri de deşeuri, în vederea completării bazei de date naţionale şi a evidenţei gestiunii deşeurilor.

11.8. Infirmiera:

- aplică procedurile stipulate de codul de procedură;
- aplică metodologia de investigaţie-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse de tipuri de deşeuri, în vederea completării bazei de date naţionale şi a evidenţei gestiunii deşeurilor.

11.9. Îngrijitoarea de curăţenie:

- aplică procedurile stipulate de codul de procedură;
- asigură transportul deşeurilor pe circuitul stabilit de codul de procedură;
- aplică metodologia de investigaţie-sondaj pentru determinarea cantităţilor produse de tipuri de deşeuri, în vederea completării bazei de date naţionale şi a evidenţei gestiunii deşeurilor.

CUPRINS